

30. 6. 2004

日本特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

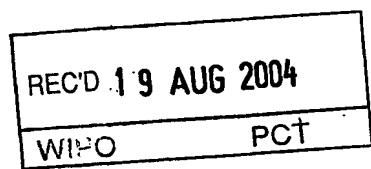
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 2003年 6月30日

出願番号
Application Number: 特願2003-188598
[ST. 10/C]: [JP2003-188598]

出願人
Applicant(s): 学校法人日本大学

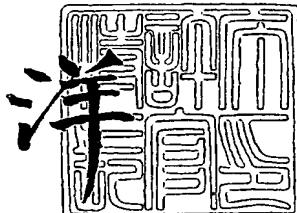


PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 8月 5日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

八月五日



【書類名】 特許願
【整理番号】 P03-0057
【提出日】 平成15年 6月30日
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 C12N 15/00
【発明者】
【住所又は居所】 東京都千代田区九段南四丁目 8番24号 学校法人 日本大学内
【氏名】 日臺 智明
【特許出願人】
【識別番号】 899000057
【氏名又は名称】 学校法人日本大学
【代理人】
【識別番号】 100092783
【弁理士】
【氏名又は名称】 小林 浩
【電話番号】 03-3273-2611
【選任した代理人】
【識別番号】 100095360
【弁理士】
【氏名又は名称】 片山 英二
【選任した代理人】
【識別番号】 100093676
【弁理士】
【氏名又は名称】 小林 純子
【選任した代理人】
【識別番号】 100120134
【弁理士】
【氏名又は名称】 大森 規雄

【選任した代理人】

【識別番号】 100114409

【弁理士】

【氏名又は名称】 古橋 伸茂

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 157061

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 切断型Del-1タンパク質

【特許請求の範囲】

【請求項1】 以下の(a)又は(b)のタンパク質。

(a) 配列番号4、6、8、10、12、14若しくは16に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質

(b) 配列番号4、6、8、10、12、14若しくは16に示されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ、細胞外基質への沈着活性を有するタンパク質

【請求項2】 以下の(a)又は(b)のタンパク質をコードする遺伝子。

(a) 配列番号4、6、8、10、12、14若しくは16に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質

(b) 配列番号4、6、8、10、12、14若しくは16に示されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ、細胞外基質への沈着活性を有するタンパク質

【請求項3】 以下の(a)又は(b)のDNAを含む遺伝子。

(a) 配列番号3、5、7、9、11、13若しくは15に示される塩基配列からなるDNA

(b) 配列番号3、5、7、9、11、13若しくは15に示される塩基配列からなるDNAに対し相補的な塩基配列からなるDNAとストリンジエントな条件下ハイブリダイズし、かつ、細胞外基質への沈着活性を有するタンパク質をコードするDNA

【請求項4】 請求項2又は3記載の遺伝子を含む組換えベクター。

【請求項5】 請求項4記載の組換えベクターを含む形質転換体。

【請求項6】 請求項5記載の形質転換体を培養し、得られる培養物からDel-1タンパク質の部分断片を採取することを特徴とするDel-1部分断片の製造方法。

【請求項7】 請求項1記載のタンパク質と細胞外基質とを反応させることにより、前記タンパク質が前記細胞外基質に沈着する部位を同定する方法。

【請求項8】 請求項1記載のタンパク質を含む、細胞外基質沈着部位同定用

試薬。

【請求項 9】 請求項 1 記載のタンパク質と発現の目的分子とが連結した融合タンパク質。

【請求項 10】 請求項 2 又は 3 記載の遺伝子と、発現の目的分子をコードする遺伝子とが連結された、融合タンパク質をコードする遺伝子。

【請求項 11】 請求項 10 記載の遺伝子を含む組換えベクター。

【請求項 12】 請求項 11 記載の組換えベクターを含む形質転換体。

【請求項 13】 請求項 12 記載の形質転換体を培養し、得られる培養物から Del-1タンパク質の部分断片と発現の目的分子との融合タンパク質を採取することを特徴とする該融合タンパク質の製造方法。

【請求項 14】 請求項 9 記載の融合タンパク質を細胞外基質に沈着させ、目的分子を採取することを特徴とする目的分子の回収方法。

【請求項 15】 目的分子を回収する方法であって、以下の工程：

(a) 請求項 12 記載の形質転換体を培養することによって、発現の目的分子と Del-1タンパク質の部分断片との融合タンパク質を生産させる工程、

(b) 前記融合タンパク質を細胞外基質に沈着させる工程、及び

(c) 前記融合タンパク質から目的タンパク質を切断することによって、前記目的分子を採取する工程

を含む前記方法。

【請求項 16】 Del-1タンパク質の部分断片であって、少なくとも以下の(a)又は(b)のタンパク質を含む断片。

(a) 配列番号 4 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質

(b) 配列番号 4 に示されるアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ、細胞外基質への沈着活性を有するタンパク質

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、内皮細胞遺伝子座-1(Del-1)タンパク質の部分断片に関する。また

、本発明は、上記部分断片を用いた細胞外基質沈着部位の同定方法、及び目的分子回収方法にも関する。

【0002】

【従来の技術】

Del-1(developmentally endothelial locus-1)タンパク質（単に「Del-1」、「全長Del-1」ともいう）は、EGF（上皮増殖因子、endothelial growth factor）類似のドメイン及びジスコイジンI類似ドメインを有するタンパク質である。このタンパク質は細胞外基質タンパク質であり、 $\alpha v \beta 3$ インテグリン受容体と呼ばれるタンパク質との相互作用を介して内皮細胞の細胞外基質への接着を促進することが知られている（Hidai, C. et al., GENES & DEVELOPMENT 12: 21-33, 1998（非特許文献1））。

【0003】

近年、全長Del-1をコードする遺伝子がクローニングされたため、全長Del-1を発現させて所定のポリペプチドを全長Del-1に結合させ、前記全長Del-1に結合したポリペプチドを回収する方法が知られている（例えば特表平11-507527号公報（特許文献1）を参照）。また、全長Del-1はそのドメインを介して細胞外基質中のプロテオグリカンと結合することができると推察されている。

【0004】

従って、これらの結合部位を特定し結合様式を解析することは、目的タンパク質の回収、及び全長Del-1に結合するタンパク質の研究解析のために重要である。

【0005】

しかしながら、全長Del-1の細胞外基質沈着能はそれほど高くないため、当該全長Del-1に結合した目的タンパク質を十分に回収することができなかった。

【0006】

【特許文献1】

特表平11-507527号公報

【0007】

【非特許文献1】

Hidai, C. et al., Genes & Development 12: 21-33, 1998

【0008】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、細胞外基質に効率良く接着することができる領域を含むDel-1の部分断片を提供することを目的とする。

【0009】

【課題を解決するための手段】

本発明者は、上記課題を解決するため鋭意研究を行った結果、ジスコイジンI類似ドメイン付近の領域が効率的に細胞外基質に沈着することを見出し、本発明を完成するに至った。

【0010】

すなわち、本発明は以下の通りである。

(1) 以下の (a)又は(b)のタンパク質。

(a) 配列番号4、6、8、10、12、14若しくは16に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質

(b) 配列番号4、6、8、10、12、14若しくは16に示されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ、細胞外基質への沈着活性を有するタンパク質

(2) 以下の (a)又は(b)のタンパク質をコードする遺伝子。

(a) 配列番号4、6、8、10、12、14若しくは16に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質

(b) 配列番号4、6、8、10、12、14若しくは16に示されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ、細胞外基質への沈着活性を有するタンパク質

(3) 以下の(a)又は(b)のDNAを含む遺伝子。

(a) 配列番号3、5、7、9、11、13若しくは15に示される塩基配列からなるDNA

(b) 配列番号3、5、7、9、11、13若しくは15に示される塩基配列からなるDNAに対し相補的な塩基配列からなるDNAとストリンジエントな条件下でハ

イブリダイズし、かつ、細胞外基質への沈着活性を有するタンパク質をコードするDNA

- (4) 前記(2)又は(3)記載の遺伝子を含む組換えベクター。
- (5) 前記(4)記載の組換えベクターを含む形質転換体。
- (6) 前記(5)記載の形質転換体を培養し、得られる培養物からDel-1タンパク質の部分断片を採取することを特徴とするDel-1部分断片の製造方法。
- (7) 前記(1)記載のタンパク質と細胞外基質とを反応させることにより、前記タンパク質が前記細胞外基質に沈着する部位を同定する方法。
- (8) 前記(1)記載のタンパク質を含む、細胞外基質沈着部位同定用試薬。
- (9) 前記(1)記載のタンパク質と発現の目的分子とが連結した融合タンパク質。
 - (10) 前記(2)又は(3)記載の遺伝子と、発現の目的分子をコードする遺伝子とが連結された、融合タンパク質をコードする遺伝子。
 - (11) 前記(10)記載の遺伝子を含む組換えベクター。
 - (12) 前記(11)記載の組換えベクターを含む形質転換体。
 - (13) 前記(12)記載の形質転換体を培養し、得られる培養物からDel-1タンパク質の部分断片と発現の目的分子との融合タンパク質を採取することを特徴とする該融合タンパク質の製造方法。
 - (14) 前記(9)記載の融合タンパク質を細胞外基質に沈着させ、目的分子を採取することを特徴とする目的分子の回収方法。
 - (15) 目的分子を回収する方法であって、以下の工程：
 - (a) 前記(12)記載の形質転換体を培養することによって、発現の目的分子とDel-1タンパク質の部分断片との融合タンパク質を生産させる工程、
 - (b) 前記融合タンパク質を細胞外基質に沈着させる工程、及び
 - (c) 前記融合タンパク質から目的タンパク質を切断することによって、前記目的分子を採取する工程
 - を含む前記方法。
- (16) Del-1タンパク質の部分断片であって、少なくとも以下の(a)又は(b)のタンパク質を含む断片。

- (a) 配列番号4に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質
- (b) 配列番号4に示されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ、細胞外基質への沈着活性を有するタンパク質

以下、本発明を詳細に説明する。

【0011】

【発明の実施の形態】

本発明は、細胞外基質に特異的に結合する領域を含む全長Del-1タンパク質の部分断片（単に、「Del-1部分断片」ともいう）に関するものである。本発明のDel-1部分断片は、全長Del-1を種々の長さに切断することにより作製されたものであり、細胞外基質への沈着活性を有することを特徴とする。

【0012】

本発明のDel-1部分断片は、全長Del-1遺伝子（配列番号1）の配列のうち、少なくとも1270～1662番の塩基配列の領域によりコードされるアミノ酸（配列番号2に示すアミノ酸配列の218～348番のアミノ酸配列）を含むものである。この領域の塩基配列を配列番号3に、これによりコードされるアミノ酸配列を配列番号4に示す。また、上記領域を含む本発明のDel-1部分断片は、配列番号5、7、9又は11に示す塩基配列を有するものであり、これらの塩基配列によりコードされるアミノ酸配列を、それぞれ配列番号6、8、10、12に示す。

【0013】

上記Del-1部分断片は、それをコードするアミノ酸配列から、プロテオグリカンと結合することができると推察されている。

【0014】

全長Del-1は、細胞から分泌された後、ほとんどが細胞外基質に沈着し、培養上清には極少量の全長Del-1しか存在しないため、ウェスタンプロット法で、培養上清中の全長Del-1を検出することは極めて難しい。このため、アルカリホスファターゼを用いた検出法が採用されている。すなわち、遺伝子組み換えにより全長Del-1タンパク質のN末端にアルカリホスファターゼを融合したタンパク質を

細胞に発現させることによって、培養上清にも細胞外基質と同様にアルカリホスファターゼ活性を確認することができる。このように、アルカリホスファターゼを用いたDel-1タンパク質の検出方法はウェスタンプロット法に比べて感度が高い。

【0015】

そこで本発明において、既知の全長Del-1を種々の方法によって切断することによって得られた本発明のDel-1部分断片を作製し、当該Del-1部分断片をアルカリホスファターゼを用いた前記検出方法による細胞外基質沈着能を調べた。また、Del-1部分断片の細胞外基質への沈着部位の同定、及び生体内特定部位へのDel-1部分断片の固定を行なった。さらに、Del-1部分断片を用いた目的遺伝子の発現産物の回収を行った。

【0016】

以下、本発明の実施の形態について具体的に説明する。

【0017】

1. Del-1部分断片をコードするDNA

Del-1部分断片は、全長Del-1をコードするDNAを種々の長さに切断し、これを発現させることにより得ることができる。

【0018】

全長Del-1遺伝子のクローニングは、公知手法に従って行うことができる (Hidai C. et al., GENES & DEVELOPMENT, 12:21-33, 1998)。すなわち、ゲノムライブラリーからエクソントラッピングによりエクソンを得、これを用いてcDNAをクローニングすることができる。

【0019】

例えば、ゲノムクローンの断片をスプライシングベクターに挿入し、mRNAの転写の際にスプライシングを起こさせる。次に、スプライスしたmRNAを逆転写及び増幅し、エクソンのシークエンスを行う。

【0020】

得られたエクソンは、cDNAライブラリーから目的DNAを釣り上げるためのプライマーとして用いるか、あるいは5'-RACE、3'-RACEのための遺伝子特異的プライマ

ーの設計に用いられる。なお、RACE法を行うには、市販のキット（例えば、Mara thon™ cDNA Amplification Kit、Clontech社）を用いることができる。

【0021】

cDNAの塩基配列の決定は、公知の任意の手法により行うことができるが、通常は自動塩基配列決定装置を用いて配列決定が行われる。

【0022】

このようにして得られた全長cDNAの塩基配列を配列番号1に示す。また、配列番号1に示す塩基配列によりコードされるアミノ酸配列を配列番号2に示す。

【0023】

本発明の切断型Del-1部分断片の1つは、配列番号2に示すアミノ酸配列のうち1～348番目のアミノ酸配列を含むものである。上記部分断片は、配列番号1に示す塩基配列を有するDNAをExonuclease IIIとMung bean nucleaseを用いて3'末端から順次削除することにより得ることができる。削除される3'末端のDNAはExonuclease IIIの反応時間により決定される。この方法は市販の酵素（例えばExonuclease III：タカラバイオ社製）を用いることができる。

【0024】

本発明の切断型Del-1部分断片の模式図を図1に示す。図1において、4-1は、配列番号2に示すアミノ酸配列のうち1～348番（配列番号6）、4-15は1～365番（配列番号8）、4-14は1～368番（配列番号10）、4-13は1～385番（配列番号12）、DBは218～418番（配列番号14）、DEは218～319番（配列番号16）の領域のアミノ酸配列を有する。これらのDel-1部分断片をコードするDNA（「本発明のDNA」という）は、4-1については配列番号1に示す塩基配列の619～1662番（1044bp、配列番号5）、4-15については619～1713番（1095bp、配列番号7）、4-14については619～1722番（1104bp、配列番号9）、4-13については619～1773番（1155bp、配列番号11）、DBについては1270～2058（789bp、配列番号13）、DEについては1270～1575（306bp、配列番号15）の領域の塩基配列を有する。

【0025】

さらに、本発明の部分断片は、上記配列番号2に示すアミノ酸配列の少なくとも218～348番のアミノ酸配列（配列番号4）を含むものである。また、本発明の

部分断片は、上記配列番号2に示すアミノ酸配列の少なくとも218～348番のアミノ酸配列（配列番号4）を複数連結したタンパク質を含むものである。これらの領域は、細胞外基質への沈着活性を有する中心領域である。上記中心領域は、配列番号1に示す塩基配列の1270～1662番の領域（配列番号3）によりコードされる。

【0026】

一度部分断片の領域が決定されると、その後は、当該領域を增幅させるようにプライマーを設計し、Del-1をコードするDNAを鑄型としてPCRを行なうことにより、容易に部分断片をコードするDNAを得ることができる。

【0027】

ここで、本発明においては、上記Del-1部分断片のアミノ酸配列からなるタンパク質が細胞外基質との沈着活性を有する限り、当該アミノ酸配列において少なくとも1個、好ましくは1個又は数個のアミノ酸に欠失、置換、付加等の変異が生じてもよい。

【0028】

例えば、配列番号4、6、8、10、12、14又は16に示すアミノ酸配列の1個又は数個、例えば1～10個、好ましくは1～5個のアミノ酸が欠失してもよく、配列番号4、6、8、10、12、14又は16に示すアミノ酸配列に、1個又は数個、例えば1～10個、好ましくは1～5個のアミノ酸が付加してもよく、あるいは、配列番号4、6、8、10、12、14又は16に示すアミノ酸配列の1個又は数個、例えば1～10個、好ましくは1～5個のアミノ酸が他のアミノ酸に置換してもよい。従って、上記変異が導入されたアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする遺伝子も、当該タンパク質が細胞外基質への沈着活性を有する限り本発明の遺伝子に含まれる。

【0029】

上記欠失、置換、付加等の変異の導入は、部位特異的突然変異誘発法を利用した変異導入用キット、例えばGeneTailorTM Site-Directed Mutagenesis System（インビトロジェン社）、TaKaRa Site-Directed Mutagenesis System（Mutan-K、Mutan-Super Express Km等：タカラバイオ社製）を用いて行なうことができる。

【0030】

さらに、本発明においては、上記Del-1部分断片をコードするDNA（配列番号3、5、7、9、11、13又は15）に対し相補的な塩基配列からなるDNAと、ストリングエントな条件下でハイブリダイズすることができるDNAであって細胞外基質に対し結合活性を有するタンパク質をコードするDNAも本発明の遺伝子に含まれる。ストリングエントな条件とは、例えば、塩（ナトリウム）濃度が150～900mMであり、温度が55～75℃、好ましくは塩（ナトリウム）濃度が150～200mMであり、温度が60～70℃での条件をいう。

【0031】

ここで、「細胞外基質」（ECM）とは、動物組織中の細胞外に存在する生体構造物であって、細胞内で合成され細胞外に分泌・蓄積した生体高分子の会合体を意味する。主要な構成成分はコラーゲン、エラスチン、プロテオグリカン、グリコサミノグリカン、糖タンパク質である。「沈着活性」とは、Del-1の全部又は一部の領域が細胞外基質に結合する活性を意味し、全長Del-1よりも沈着活性が高いもの、あるいは全長Del-1より短いが沈着活性が同等であるものも含まれる。沈着活性の測定は、例えば以下の通り行われる。

【0032】

本発明のDNAにアルカリホスファターゼなどのマーカーをコードするDNAを連結し、これを所定の細胞（例えばCOS細胞、CHO細胞、NIH3T3細胞等）に導入して培養する。培養容器からその培養上清及び細胞を除去した後、培養容器に残った細胞外基質にアルカリホスファターゼの基質を加えて発色させ、沈着活性を測定する。Del-1部分断片にはマーカー（アルカリホスファターゼ）も結合しているため、Del-1部分断片が細胞外基質に沈着すると、マーカーを指標として結合活性を測定することができるとともに、結合位置を同定することができる。例えば、可溶性アルカリホスファターゼ基質を用いると、基質が発色（例えば、黄色等に発色）するため、特異的な波長での吸光度を測定することで容易に沈着活性を測定することができる。また、沈着性アルカリホスファターゼを用いると、沈着部位が発色（例えば、紫等）するため、顕微鏡観察等によりその沈着部位を容易に同定することができる。

【0033】

なお、マーカーはアルカリホスファターゼに限定されるものではなく、その他 GFPとその変異型、mycやHisなどのtag、GST蛋白、アイソトープ、ビオチン化蛋白などを用いることができる。また、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ (CAT) 遺伝子、ルシフェラーゼ遺伝子、 β ガラクトシダーゼなどのレポーター遺伝子を用いてアッセイすることも可能である。

【0034】

2. 本発明のDNAを含む組換えベクター及び形質転換体の作製

(1) DNAを含む組換えベクターの作製

本発明のDNAを含む組換えベクターは、適当なベクターに本発明のDNAを連結(挿入)することにより得ることができる。本発明のDNAを挿入するためのベクターは、宿主中で複製可能なものであれば特に限定されず、例えば、プラスミドDNA、ファージDNA、ウイルス等が挙げられる。

【0035】

プラスミドDNAとしては、大腸菌由来のプラスミド、枯草菌由来のプラスミド、酵母由来のプラスミドなどが挙げられ、ファージDNAとしては λ ファージ等が挙げられる。またウイルスとしてはアデノウイルスやレトロウイルスなどが挙げられる。

【0036】

本発明のベクターには、プロモーター、本発明のDNAのほか、所望によりエンハンサーなどのシスエレメント、スプライシングシグナル、ポリA付加シグナル、選択マーカー、リボソーム結合配列 (SD配列) などを連結することができる。なお、選択マーカーとしては、例えばジヒドロ葉酸還元酵素遺伝子、アンピシリン耐性遺伝子、ネオマイシン耐性遺伝子等が挙げられる。

【0037】

(2) 形質転換体の作製

本発明の形質転換体は、本発明の組換えベクターを、目的遺伝子が発現し得るように宿主中に導入することにより得ることができる。ここで、宿主としては、本発明のDNAを発現できるものであれば特に限定されるものではない。例えば、

当分野において周知の細菌、酵母、動物細胞、昆虫細胞を用いることができる。また、マウスなどの実験動物やブタなどの家畜、イネ、トウモロコシなどの植物を用いることができる。

【0038】

細菌を宿主とする場合は、本発明の組換えベクターが該細菌中で自律複製可能であると同時に、プロモーター、リボゾーム結合配列、本発明のDNA、転写終結配列を含めることができる。細菌としては、大腸菌(*Escherichia coli*)、枯草菌(*Bacillus subtilis*)などが挙げられる。プロモーターとしては、例えばtrpプロモーター、lacプロモーター、PLプロモーター、PRプロモーターなどが用いられる。細菌への組換えベクターの導入方法は特に限定されるものではなく、例えばカルシウムイオンを用いる方法、エレクトロポレーション法等が挙げられる。

【0039】

酵母を宿主とする場合は、例えばサッカロミセス・セレビシエ(*Saccharomyces cerevisiae*)、シゾサッカロミセス・ポンベ(*Schizosaccharomyces pombe*)などが用いられる。この場合、プロモーターとしては酵母中で発現できるものであれば特に限定されず、例えばgal1プロモーター、gal10プロモーター、ヒートショックタンパク質プロモーター、MF α 1プロモーター、PH05プロモーター、PGKプロモーター、GAPプロモーター、ADHプロモーター等が挙げられる。酵母への組換えベクターの導入方法としては、例えばエレクトロポレーション法、スフェロプラスト法、酢酸リチウム法等が挙げられる。

【0040】

動物細胞を宿主とする場合は、サル細胞(COS細胞)、Vero、チャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO細胞)、マウスL細胞、ラットGH3細胞、又はヒトFL、HEK293細胞などが用いられる。プロモーターとしては、SR α プロモーター、SV40プロモーター、LTRプロモーター、 β -アクチンプロモーター等が挙げられる。動物細胞への組換えベクターの導入方法としては、例えばエレクトロポレーション法、リン酸カルシウム法、リポフェクション法等が挙げられる。

【0041】

昆虫細胞を宿主とする場合は、Sf9細胞、Sf21細胞などが用いられる。昆虫細

胞への組換えベクターの導入方法としては、例えばリン酸カルシウム法、リポフェクション法、エレクトロポレーション法などが用いられる。

【0042】

また、動物、植物に対する遺伝子導入にはウイルスベクターを用いる方法や、リポフェクション法などがある。また生殖細胞やES細胞に対して遺伝子を導入し、遺伝子組み換え動物を作製することも可能である。

【0043】

3. 本発明のDel-1部分断片の生産

本発明のDel-1部分断片は、前記形質転換体を培養あるいは飼育し、その培養物あるいは飼育産物から採取することにより得ることができる。「培養物」とは、培養上清、培養細胞、培養菌体、又は細胞若しくは菌体の破碎物のいずれをも意味するものである。「飼育産物」とは動物、植物の本体、組織、分泌物、排泄物およびそれらの加工品のいずれをも意味するものである。

【0044】

本発明の形質転換体を培養する方法は、宿主の培養に用いられる通常の方法に従って行われる。

【0045】

細菌や酵母等を宿主とする形質転換体を培養する培地としては、微生物が資化し得る炭素源、窒素源、無機塩類等を含有し、形質転換体の培養を効率的に行うことができる培地であれば、天然培地、合成培地のいずれを用いてもよい。

【0046】

炭素源としては、グルコース、フラクトース、スクロース、デンプン等の炭水化物、酢酸、プロピオン酸等の有機酸、エタノール、プロパノール等のアルコール類が用いられる。

【0047】

窒素源としては、アンモニア、塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム、酢酸アンモニウム、リン酸アンモニウム等の無機酸若しくは有機酸のアンモニウム塩、ペプトン、肉エキス、コーンステイーブリカー等が用いられる。

【0048】

無機物としては、リン酸第一カリウム、リン酸第二カリウム、リン酸マグネシウム、硫酸マグネシウム、塩化ナトリウム、硫酸第一鉄、硫酸マンガン、硫酸銅、炭酸カルシウム等が用いられる。

【0049】

培養は、通常、振盪培養又は通気攪拌培養などの好気的条件下、例えば37℃で12～24時間行う。pHの調整は、無機又は有機酸、アルカリ溶液等を用いて行う。

【0050】

プロモーターとして誘導性のプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養する場合は、必要に応じてインデューサーを培地に添加してもよい。例えば、Lacプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときにはイソプロピル- β -D-チオガラクトシド(IPTG)等を培地に添加してもよい。

【0051】

動物細胞を宿主として得られた形質転換体を培養する培地としては、一般に使用されているRPMI-1640培地、DMEM培地又はこれらの培地に牛胎児血清等を添加した培地等が用いられる。

【0052】

培養は、通常、5%CO₂存在下、37℃で1～4日行う。培養中は必要に応じてカナマイシン、ペニシリン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

【0053】

培養後、本発明のタンパク質が菌体内又は細胞内に生産される場合には、菌体又は細胞を破碎することによりタンパク質を抽出する。また、タンパク質が菌体外又は細胞外に生産される場合には、培養液をそのまま使用するか、遠心分離等により菌体又は細胞を除去する。その後、タンパク質の単離精製に用いられる一般的な生化学的方法、例えば硫酸アンモニウム沈殿、ゲルクロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティーコロマトグラフィー等を単独で又は適宜組み合わせて用いることにより、前記培養物中から本発明のDel-1部分断片を単離精製することができる。

【0054】

動物（マウス、ラット、ウサギ、ヤギ、ウシ等の実験動物又は家畜）、あるいは植物が形質転換体として用いられる場合、それらは通常の飼育、栽培方法以外に、無菌環境や特殊飼料など特殊な飼育培養方法を必要とする可能性もある。形質転換体が上記動物の場合、肉、卵、毛、母乳、尿、糞便などから、一般的な生化学的方法、例えば硫酸アンモニウム沈殿、ゲルクロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティーコロマトグラフィー等を単独で又は適宜組み合わせて用いることにより、本発明のDel-1部分断片を単離精製することができる。

【0055】

また形質転換体が植物の場合、葉、花、実、根などのほか、栽培に用いた土や水などから、一般的な生化学的方法、例えば硫酸アンモニウム沈殿、ゲルクロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティーコロマトグラフィー等を単独で又は適宜組み合わせて用いることにより、本発明のDel-1部分断片を単離精製することができる。

【0056】

4. 目的遺伝子の発現産物の回収

Del-1部分断片及び目的分子を発現する細胞系又は動植物は、目的遺伝子を発現させることにより、その発現産物である目的分子（例えば、タンパク質、抗体、ペプチド、天然若しくは合成化合物、他の細胞、又は可溶性分子）を回収するために使用することができる。また、Del-1部分断片を直接使用することもできる。

【0057】

目的分子を回収する方法を以下に説明する。まず、目的分子とDel-1部分断片とが結合した融合タンパク質を作製する。すなわち、当該分子をコードするDNA及びDel-1部分断片コードするDNAを連結し、これを適当なベクターに連結する。これを宿主細胞に導入して培養し、目的分子が連結した融合タンパク質を作製する。ベクターへの連結、細胞への導入、形質転換細胞の培養法、形質転換体の飼育栽培法は前記2項、3項の説明と同様である。

【0058】

形質転換細胞を用いる場合、上記融合タンパク質のうち、Del-1部分断片の全部又はその一部の領域は、培養容器上に広がる細胞外基質に沈着する。従って、培養後に培養上清及び細胞を除去しても、融合タンパク質は細胞外基質に沈着した状態で培養容器に残存している。そこで、培養容器から培養上清及び細胞を除去した後、融合タンパク質が沈着している細胞外基質を機械的にかきとることにより、目的分子を回収することができる。また、あらかじめ目的分子のDNA塩基配列とDel-1部分断片の塩基配列の間に特異的な酵素（例えばFactor Xa）の切断配列を挿入しておけば、その酵素を用いて目的分子のみ回収することも可能である。

【0059】

ここで、Del-1部分断片と発現目的分子とが結合している融合タンパク質から、発現目的分子を同定し単離するために、Del-1部分断片に標識を付けることが必要である。Del-1部分断片は、アルカリ性ホスファターゼ若しくは西洋わさびパーオキシダーゼ等の酵素、あるいはフルオレセインイソチオシアナート(FITC)、フィコシアニン若しくはローダミンを含む蛍光標識などの試薬を用いて標識することができる。

【0060】

また、本発明のDel-1部分断片は、細胞外基質への沈着活性を有するため、結合検定、アフィニティクロマトグラフィー、免疫沈降法、ウエスタン法などに利用することができる。

【0061】

Del-1部分断片と結合できる発現目的ポリペプチドの同定は、組換えDel-1部分断片によるペプチドライブラーのスクリーニングによって行うことも可能である。

【0062】

標識された前記融合タンパク質をランダムペプチドライブラーとともにインキュベートし、Del-1部分断片とライブラー中のペプチドとを結合させる。次にそのライブラーを洗浄し、未結合のポリペプチドを除去する。アルカリホスファターゼ又はパーオキシダーゼの基質、たとえば、5-プロモ-4-クロロ-3-イン

ドリルホスフェート(BCIP)、3,3'-ジアミノベンジジン(DAB)を含むウェルにライプラリーのペプチドを添加し、数分インキュベートすると、アルカリホスファターゼ等が発色するため、目的分子を容易に同定し単離することができる。

【0063】

形質転換体が動植物の場合、上記融合タンパク質を特定の部位に発現させると、本発明のDel-1部分断片は細胞外基質に沈着するため、目的タンパクはその組織で濃縮される。従ってその農畜産物を直接食することや生化学的に抽出することで効率的に目的分子を回収し利用できる。

【0064】

5. 細胞外基質への沈着部位の同定

前記1項において説明したように、本発明のDel-1部分断片は、細胞外基質への沈着活性を有する。沈着性マーカーを使用することにより、本発明のDel-1部分断片は、視覚的に細胞外基質への沈着部位を観察することができる。

【0065】

従って、本発明のDel-1部分断片は、細胞外基質への沈着部位を同定するための試薬として使用することができ、マーカー、発色基質、マーカーに対する抗体等とともに、細胞外基質沈着部位同定用キットに含めることができる。

【0066】

6. 生物活性物質の生体内特定部位への固定

目的分子と本発明のDel-1部分断片とからなる融合タンパク質を特定組織内で発現させた場合、その目的分子は細胞外基質の所定の部位に固定され他の部位へ移行しない。結果として、その部位で濃縮される。

【0067】

これによって、本発明のDel-1部分断片をコードする塩基配列は、適切な細胞、組織又は臓器に特異的なプロモーター配列と組み合わせて、目的分子を特定組織に発現させ、固定、限定、濃縮するためのベクターとして使用することができる。

【0068】

さらにBCIPを用いた染色により、細胞外アルカリホスファターゼ活性は細胞外

基質に存在することがわかった。（実施例2）

このように、Del-1タンパク質の部分断片は、全長Del-1タンパク質よりはるかに強力な細胞外基質沈着能を有し、アルカリホスファターゼのような他のタンパク質を細胞外基質に固定する働きがあることを意味している。

【0069】

【実施例】

以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。但し、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

【0070】

〔実施例1〕 Del-1部分断片の作製

受精後9から12日のマウス胎児よりTRIzol (Invitrogen社)を用いてRNAを抽出した。それを鋳型とし、Superscrpt II (Invitrogen社)を用いて逆転写反応を行いcDNAを作成した。配列番号2に示すアミノ酸配列のうち、シグナルペプタイドの配列を除いた塩基配列697～2089を、PCRで増幅した後にベクターに挿入できる様に、プライマーの5末端に制限酵素認識配列を入れた。プライマーの塩基配列は以下の通りである。

【0071】

Forward primer; AAA GAT CTA ACC CGA ACC CCT GTG AA (配列番号17)

Reverse primer; AAC TCG AGC ATT GTG GGA TGT GCG (配列番号18)

PCRは、94℃で30秒、55℃で30秒、72℃で1分30秒の反応を35回行った。

【0072】

このPCR産物を制限酵素のBgl IIとXho Iで処理し、プラスミドpAPtag-5(フナコシ社)に連結した。この様にして作製したプラスミドをXho Iで切断した後、Exonuclease III (タカラバイオ社)で10秒から2分処理して、図1に示す様々な長さのDel-1部分断片 (4-8, 4-13, 4-14, 4-15, 4-1, 4-11, 2-6, Del-1 minor, 1-1, 2-3) を作製した。また、PCRを用いて図1に示す様々な長さのDel-1部分断片 (FB, DE, DB) を作製した。

【0073】

〔実施例2〕 Del-1部分断片の細胞外基質への沈着活性

実施例1で作製した部分断片のうち、4-8, 4-13, 4-14, 4-1, 4-11, 2-6, Del-1 minor, 1-1, 2-3をプラスミドpAPtag-5(フナコシ社)に連結し、cos7細胞に導入した。導入後3日後に培養上清、細胞及び細胞外基質を採取した。まず上清を採取した後、0.05%EDTAを含むPBSを加えてインキュベートすることで細胞が培養皿の底から剥がれて採取可能になり、培養皿の底には細胞外基質が残される。こうしてそれぞれに含まれるアルカリホスファターゼ活性を検出した。対照として、野生型全長Del-1 (AP4Del-1) 及び培地のみのサンプルを作製し、アルカリホスファターゼ活性を検出した。アルカリホスファターゼ活性は、上清の活性に対する細胞外基質の比 (AP活性比) として求めた。

【0074】

結果を図2に示す。図2より、4-1、4-14及び4-13が野生型Del-1よりも活性が強く、4-11及び2-6は野生型Del-1よりも活性は低下し、Del-1 minorではほとんど活性が認められなかった。

【0075】

沈着活性の中心領域を検討するため、DB (配列番号1に示す塩基配列の1270～2058番)、DE (配列番号1に示す塩基配列の1270～1575番) およびFB (配列番号1に示す塩基配列の1576～2058番) を発現させて上記と同様にしてアルカリホスファターゼ活性を測定した。

【0076】

その結果、DBとDEでは全長Del-1に匹敵する沈着活性を得たが、FBでは沈着活性は認められなかった。従って、活性中心領域は、配列番号1に示す塩基配列の1270～1662番目の領域 (配列番号3)、すなわち、配列番号2に示すアミノ酸配列の218～348番目のアミノ酸配列の領域であると考えられた。

【0077】

さらに、実施例1で作製したDel-1部分断片のうち、Del-1 minor (配列番号1に示す塩基配列の619～1271番) 又は4-1をプラスミドpAPtag-5(フナコシ社)に連結し、cos7細胞に導入した。導入後3日後に培養上清、細胞及び細胞外基質を採取した。まず上清を採取した後、0.05%EDTAを含むPBSを加えてインキュベートす

ることで細胞が培養皿の底から剥がれて採取可能になり、培養皿の底には細胞外基質が残される。そして、それぞれに含まれるアルカリホスファターゼ活性を検出した。

【0078】

結果を図3に示す。図3において、A～DはDel-1 minorを用いて作製したサンプルの結果であり、E～Hは、4-1を用いて作製したサンプルの結果である。また、A及びEは細胞を沈着性アルカリホスファターゼ基質（BCIP）で染色したものである。B及びFは、細胞を0.05%EDTAを用いて剥がした後、残った細胞外基質をBCIPで染色した結果である。C及びGは、細胞を0.05%EDTAを用いて剥がした後、残った細胞外基質に可溶性アルカリホスファターゼ基質（PNPP）を加えて発色させたときの結果である。D及びHは、従来行われていたように、細胞培養液（培養上清）にPNPPを加え発色反応させたときの結果である。

【0079】

紫色に染まった箇所がアルカリホスファターゼ活性部位、すなわち4-1の沈着部位である（E,F）。図3E及びFの結果から、4-1は細胞及び細胞外基質に沈着したことが分かる。これに対し、Del-1 minorは、細胞及び細胞外基質のいずれにも沈着しなかった（A,B）。

【0080】

同様に、4-1を用いたときは、細胞外基質は可溶性基質であるPNPPによって黄色に染色されたのに対し（G）、Del-1 minorを用いたときは全く染色されなかった（C）。また、細胞培養液にPNPPを加え発色反応を行なった場合において、Del-1 minorを用いたときは培養液が黄色に染色されたのに対し（D）、4-1を用いたときは発色しなかった（H）。従って、4-1は細胞外基質に沈着し、Del-1 minorはほとんど沈着しなかったことが分かる。

【0081】

ところで、本発明においては、図3Gに示すように可溶性アルカリホスファターゼを用いて基質を発色させることにより、そのまま吸光度計などを用いて細胞外基質中のアルカリホスファターゼ活性を測定することができる。

【0082】

そこで、Del-1部分断片（4-1）及び全長Del-1について、細胞外基質内及び培養上清中のアルカリホスファターゼ活性を測定し、両者を比較したところ、Del-1部分断片（4-1）は全長Del-1より2.5倍も基質への沈着活性が高かった。

【0083】

【実施例3】 目的分子の回収

本実施例は、アルカリホスファターゼを目的遺伝子の発現産物として回収した例を示すものである。アルカリホスファターゼの回収は、アルカリホスファターゼの基質との発色反応により検出を行なうことで確認した。

【0084】

アルカリホスファターゼ遺伝子と切断型Del-1遺伝子配列（4-1）を連結したDNAを導入したcos7細胞と、対照として、野生型cos細胞およびアルカリホスファターゼ遺伝子のみ導入したcos細胞を調製した。

【0085】

それらの細胞を3日間培養した後に、0.05%EDTA溶液で細胞を取り除き、スクレーパーで底面の細胞外基質を回収した。回収したサンプルを遠心器にかけて、遠心の後の上清を取り除くことによってペレットを作製した後、実施例2（図3 B,F）と同様の操作を行いアルカリホスファターゼの基質であるBCIPを加えて発色させた。

【0086】

結果を図4に示す。図4において、(a)は野生型cos細胞、(b)はアルカリホスファターゼ遺伝子のみを導入したcos細胞、(c)は4-1部分断片とアルカリホスファターゼ遺伝子を連結した融合遺伝子を導入したcos細胞の結果である。図4に示したように、Del-1部分断片（4-1）を導入したサンプル(c)ではペレットが濃青紫に染色された。これによって、不溶性の細胞外基質にDel-1部分断片（4-1）を介してアルカリホスファターゼが回収されたことがわかった。これに対し、対照ではほとんど発色しなかったことから、アルカリホスファターゼはほとんど回収されないことが示された。

【0087】

【発明の効果】

本発明により、Del-1部分断片が提供される。Del-1部分断片は細胞外基質への沈着活性を有することから、Del-1部分断片を用いることによって、目的分子を細胞外基質に効率的に沈着させることができる。また当該沈着によって、目的分子を回収または除去することができる。

【0088】

さらに、Del-1部分断片を用いて目的分子を細胞外基質上に沈着させることによって、当該目的分子を局所で濃縮、限局することができる。

【0089】

【配列表フリーテキスト】

配列番号17：合成DNA

配列番号18：合成DNA

【0090】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Nihon University

<120> A truncated Del-1 protein

<130> P03-0057

<160> 18

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 2303

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (619)..(2061)

<223>

<400> 1

gaattccggtaaactgagga caaagggtaa tgcagaagtg atatttgatt tccattctca 60

ttcccgagtgg ccttgatatt taaactgatt cctgccacca ggtccttggg ccaccctgtc 120

cctgcgtctc atatttctgc atgcgtgttt gtttgtatat agtgcgtcc tggccctcagg 180

ctcgctcccc tccagctctc gcttcattgt tctccaagtc agaagcccccc gcatccgccc 240

cgcagcagcg tgagccgtag tcactgctgg ccgcgttcgcc tgcgtgcgcg cacggaaatc 300

ggggggcccg gaaaccccaagg agcccgccgtc cggcccgctgt gcctctgcta gaccactcg 360

agcccccagcc tctctcaagc gcacccaccc cggcgccaccc cagctcaggg gaagctggag 420

tgagggtgaa tcaccctttc tctagggcca ccactctttt atcgcccttc ccaagattg 480

agaaggcgctg cggggaggaaa gacgtcctct tgatctctga caggggcgggg tttactgctg 540

tcctgcaggc gcgcctcgcc tactgtgccc tccgctacga ccccgacca gcccaggta 600

cgtccgtgag aagggatc atg aag cac ttg gta gca gcc tgg ctt ttg gtt 651

Met Lys His Leu Val Ala Ala Trp Leu Leu Val			
1	5	10	
gga ctc agc ctc ggg gtg ccc cag ttc ggc aaa ggt gac att tgc aac			699
Gly Leu Ser Leu Gly Val Pro Gln Phe Gly Lys Gly Asp Ile Cys Asn			
15	20	25	
ccg aac ccc tgt gaa aat ggt ggc atc tgt ctg tca gga ctg gct gat			747
Pro Asn Pro Cys Glu Asn Gly Gly Ile Cys Leu Ser Gly Leu Ala Asp			
30	35	40	
gat tcc ttt tcc tgt gag tgt cca gaa ggc ttc gca ggt ccg aac tgc			795
Asp Ser Phe Ser Cys Glu Cys Pro Glu Gly Phe Ala Gly Pro Asn Cys			
45	50	55	
tct agt gtt gtg gag gtt gca tca gat gaa gaa aag cct act tca gca			843
Ser Ser Val Val Glu Val Ala Ser Asp Glu Glu Lys Pro Thr Ser Ala			
60	65	70	75
ggt ccc tgc atc cct aac cca tgc cat aac gga gga acc tgt gag ata			891
Gly Pro Cys Ile Pro Asn Pro Cys His Asn Gly Gly Thr Cys Glu Ile			
80	85	90	
agc gaa gcc tat cga gga gac aca ttc ata ggc tat gtt tgt aaa tgt			939
Ser Glu Ala Tyr Arg Gly Asp Thr Phe Ile Gly Tyr Val Cys Lys Cys			
95	100	105	
cct cgg gga ttt aat ggg att cac tgt cag cac aat ata aat gaa tgt			987
Pro Arg Gly Phe Asn Gly Ile His Cys Gln His Asn Ile Asn Glu Cys			

110	115	120	
gaa gct gag cct tgc aga aat ggc gga ata tgt acc gac ctt gtt gct			1035
Glu Ala Glu Pro Cys Arg Asn Gly Gly Ile Cys Thr Asp Leu Val Ala			
125	130	135	
aac tac tct tgt gaa tgc cca gga gaa ttt atg gga cga aat tgt caa			1083
Asn Tyr Ser Cys Glu Cys Pro Gly Glu Phe Met Gly Arg Asn Cys Gln			
140	145	150	155
tat aaa tgc tct ggg cca ttg gga atc gaa ggt ggg atc ata tct aat			1131
Tyr Lys Cys Ser Gly Pro Leu Gly Ile Glu Gly Ile Ile Ser Asn			
160	165	170	
cag caa atc aca gct tca tct act cac cga gct ctt ttt gga ctc cgg			1179
Gln Gln Ile Thr Ala Ser Ser Thr His Arg Ala Leu Phe Gly Leu Arg			
175	180	185	
aag tgg tat ccc tac tat gct cga ctt aat aag aag ggc ctt ata aat			1227
Lys Trp Tyr Pro Tyr Tyr Ala Arg Leu Asn Lys Lys Gly Leu Ile Asn			
190	195	200	
gcc tgg aca gct gct gaa aat gac aga tgg cca tgg att cag ata aat			1275
Ala Trp Thr Ala Ala Glu Asn Asp Arg Trp Pro Trp Ile Gln Ile Asn			
205	210	215	
ttg caa aga aaa atg aga gtc act ggt gtt att acc caa gga gca aaa			1323
Leu Gln Arg Lys Met Arg Val Thr Gly Val Ile Thr Gln Gly Ala Lys			
220	225	230	235

agg att gga agc cca gag tac ata aaa tcc tac aaa att gcc tac agc 1371
 Arg Ile Gly Ser Pro Glu Tyr Ile Lys Ser Tyr Lys Ile Ala Tyr Ser

240 245 250

aat gac ggg aag acc tgg gca atg tac aaa gta aaa ggc acc aat gaa 1419
 Asn Asp Gly Lys Thr Trp Ala Met Tyr Lys Val Lys Gly Thr Asn Glu

255 260 265

gag atg gtc ttt cgt gga aat gtt gat aac aac aca cca tat gct aat 1467
 Glu Met Val Phe Arg Gly Asn Val Asp Asn Asn Thr Pro Tyr Ala Asn

270 275 280

tct ttc aca ccc cca atc aaa gct cag tat gta aga ctc tac ccc caa 1515
 Ser Phe Thr Pro Pro Ile Lys Ala Gln Tyr Val Arg Leu Tyr Pro Gln
 285 290 295

att tgt cga agg cat tgt act tta aga atg gaa ctt ctt ggc tgt gag 1563
 Ile Cys Arg Arg His Cys Thr Leu Arg Met Glu Leu Leu Gly Cys Glu
 300 305 310 315

ctc tca ggc tgt tca gaa cct ttg ggg atg aaa tca ggg cat ata caa 1611
 Leu Ser Gly Cys Ser Glu Pro Leu Gly Met Lys Ser Gly His Ile Gln
 320 325 330

gac tac cag atc act gcc tcc agc gtc ttc aga aca aca ctc aac atg gac 1659
 Asp Tyr Gln Ile Thr Ala Ser Ser Val Phe Arg Thr Leu Asn Met Asp
 335 340 345

atg ttt act tgg gaa cca agg aaa gcc agg ctg gac aag caa ggc aaa	1707		
Met Phe Thr Trp Glu Pro Arg Lys Ala Arg Leu Asp Lys Gln Gly Lys			
350	355	360	
gta aat gcc tgg act tcc ggc cat aac gac cag tca caa tgg tta cag	1755		
Val Asn Ala Trp Thr Ser Gly His Asn Asp Gln Ser Gln Trp Leu Gln			
365	370	375	
gtt gat ctt ctt gtc cct act aag gtg aca ggc atc att aca caa gga	1803		
Val Asp Leu Leu Val Pro Thr Lys Val Thr Gly Ile Ile Thr Gln Gly			
380	385	390	395
gct aaa gat ttt ggt cac gtg cag ttt gtt ggg tca tac aaa cta gct	1851		
Ala Lys Asp Phe Gly His Val Gln Phe Val Gly Ser Tyr Lys Leu Ala			
400	405	410	
tac agc aat gat gga gaa cac tgg atg gtg cac cag gat gaa aaa cag	1899		
Tyr Ser Asn Asp Gly Glu His Trp Met Val His Gln Asp Glu Lys Gln			
415	420	425	
agg aaa gac aag gtt ttt caa ggc aat ttt gac aat gac act cac agg	1947		
Arg Lys Asp Lys Val Phe Gln Gly Asn Phe Asp Asn Asp Thr His Arg			
430	435	440	
aaa aat gtc atc gac cct ccc atc tat gca cga ttc ata aga atc ctt	1995		
Lys Asn Val Ile Asp Pro Pro Ile Tyr Ala Arg Phe Ile Arg Ile Leu			
445	450	455	
cct tgg tcc tgg tat gga agg atc act ctg cgg tca gag ctg ctg ggc	2043		

Pro Trp Ser Trp Tyr Gly Arg Ile Thr Leu Arg Ser Glu Leu Leu Gly
 460 465 470 475

tgc gca gag gag gaa tga agtgcggggc cgcacatccc acaatgcttt 2091
 Cys Ala Glu Glu Glu
 480

tctttatttt cctataagta tctccacgaa atgaactgtg tgaagctgat ggaaactgca 2151

tttgggggg tcaaagtgtt caaattatgg taggctactg actgtcttt taggagttct 2211

aagcttgcct ttttaataat ttaatttggt ttcccttgct caactctctt atgtaatatc 2271

acactgtctg tgagttactc ttcttgttct ct 2303

<210> 2

<211> 480

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 2

Met Lys His Leu Val Ala Ala Trp Leu Leu Val Gly Leu Ser Leu Gly
 1 5 10 15

Val Pro Gln Phe Gly Lys Gly Asp Ile Cys Asn Pro Asn Pro Cys Glu
 20 25 30

Asn Gly Gly Ile Cys Leu Ser Gly Leu Ala Asp Asp Ser Phe Ser Cys

35

40

45

Glu Cys Pro Glu Gly Phe Ala Gly Pro Asn Cys Ser Ser Val Val Glu

50

55

60

Val Ala Ser Asp Glu Glu Lys Pro Thr Ser Ala Gly Pro Cys Ile Pro

65

70

75

80

Asn Pro Cys His Asn Gly Gly Thr Cys Glu Ile Ser Glu Ala Tyr Arg

85

90

95

Gly Asp Thr Phe Ile Gly Tyr Val Cys Lys Cys Pro Arg Gly Phe Asn

100

105

110

Gly Ile His Cys Gln His Asn Ile Asn Glu Cys Glu Ala Glu Pro Cys

115

120

125

Arg Asn Gly Gly Ile Cys Thr Asp Leu Val Ala Asn Tyr Ser Cys Glu

130

135

140

Cys Pro Gly Glu Phe Met Gly Arg Asn Cys Gln Tyr Lys Cys Ser Gly
145 150 155 160

Pro Leu Gly Ile Glu Gly Ile Ile Ser Asn Gln Gln Ile Thr Ala
165 170 175

Ser Ser Thr His Arg Ala Leu Phe Gly Leu Arg Lys Trp Tyr Pro Tyr
180 185 190

Tyr Ala Arg Leu Asn Lys Lys Gly Leu Ile Asn Ala Trp Thr Ala Ala
195 200 205

Glu Asn Asp Arg Trp Pro Trp Ile Gln Ile Asn Leu Gln Arg Lys Met
210 215 220

Arg Val Thr Gly Val Ile Thr Gln Gly Ala Lys Arg Ile Gly Ser Pro
225 230 235 240

Glu Tyr Ile Lys Ser Tyr Lys Ile Ala Tyr Ser Asn Asp Gly Lys Thr
245 250 255

Trp Ala Met Tyr Lys Val Lys Gly Thr Asn Glu Glu Met Val Phe Arg

260

265

270

Gly Asn Val Asp Asn Asn Thr Pro Tyr Ala Asn Ser Phe Thr Pro Pro

275

280

285

Ile Lys Ala Gln Tyr Val Arg Leu Tyr Pro Gln Ile Cys Arg Arg His

290

295

300

Cys Thr Leu Arg Met Glu Leu Leu Gly Cys Glu Leu Ser Gly Cys Ser

305

310

315

320

Glu Pro Leu Gly Met Lys Ser Gly His Ile Gln Asp Tyr Gln Ile Thr

325

330

335

Ala Ser Ser Val Phe Arg Thr Leu Asn Met Asp Met Phe Thr Trp Glu

340

345

350

Pro Arg Lys Ala Arg Leu Asp Lys Gln Gly Lys Val Asn Ala Trp Thr

355

360

365

Ser Gly His Asn Asp Gln Ser Gln Trp Leu Gln Val Asp Leu Leu Val

370

375

380

Pro Thr Lys Val Thr Gly Ile Ile Thr Gln Gly Ala Lys Asp Phe Gly

385

390

395

400

His Val Gln Phe Val Gly Ser Tyr Lys Leu Ala Tyr Ser Asn Asp Gly

405

410

415

Glu His Trp Met Val His Gln Asp Glu Lys Gln Arg Lys Asp Lys Val

420

425

430

Phe Gln Gly Asn Phe Asp Asn Asp Thr His Arg Lys Asn Val Ile Asp

435

440

445

Pro Pro Ile Tyr Ala Arg Phe Ile Arg Ile Leu Pro Trp Ser Trp Tyr

450

455

460

Gly Arg Ile Thr Leu Arg Ser Glu Leu Leu Gly Cys Ala Glu Glu Glu

465

470

475

480

<210> 3

<211> 393

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(393)

<223>

<400> 3

ata aat ttg caa aga aaa atg aga gtc act ggt gtt att acc caa gga	48		
Ile Asn Leu Gln Arg Lys Met Arg Val Thr Gly Val Ile Thr Gln Gly			
1	5	10	15

gca aaa agg att gga agc cca gag tac ata aaa tcc tac aaa att gcc	96		
Ala Lys Arg Ile Gly Ser Pro Glu Tyr Ile Lys Ser Tyr Lys Ile Ala			
20	25	30	

tac agc aat gac ggg aag acc tgg gca atg tac aaa gta aaa ggc acc	144		
Tyr Ser Asn Asp Gly Lys Thr Trp Ala Met Tyr Lys Val Lys Gly Thr			
35	40	45	

aat gaa gag atg gtc ttt cgt gga aat gtt gat aac aac aca cca tat	192		
Asn Glu Glu Met Val Phe Arg Gly Asn Val Asp Asn Asn Thr Pro Tyr			
50	55	60	

gct aat tct ttc aca ccc cca atc aaa gct cag tat gta aga ctc tac	240		
Ala Asn Ser Phe Thr Pro Pro Ile Lys Ala Gln Tyr Val Arg Leu Tyr			
65	70	75	80

ccc caa att tgt cga agg cat tgt act tta aga atg gaa ctt ctt ggc 288
 Pro Gln Ile Cys Arg Arg His Cys Thr Leu Arg Met Glu Leu Leu Gly
 85 90 95

tgt gag ctc tca ggc tgt tca gaa cct ttg ggg atg aaa tca ggg cat 336
 Cys Glu Leu Ser Gly Cys Ser Glu Pro Leu Gly Met Lys Ser Gly His
 100 105 110

ata caa gac tac cag atc act gcc tcc agc gtc ttc aga aca ctc aac 384
 Ile Gln Asp Tyr Gln Ile Thr Ala Ser Ser Val Phe Arg Thr Leu Asn
 115 120 125

atg gac atg 393
 Met Asp Met
 130

<210> 4
 <211> 131
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 4

Ile Asn Leu Gln Arg Lys Met Arg Val Thr Gly Val Ile Thr Gln Gly
 1 5 10 15

Ala Lys Arg Ile Gly Ser Pro Glu Tyr Ile Lys Ser Tyr Lys Ile Ala

20

25

30

Tyr Ser Asn Asp Gly Lys Thr Trp Ala Met Tyr Lys Val Lys Gly Thr

35

40

45

Asn Glu Glu Met Val Phe Arg Gly Asn Val Asp Asn Asn Thr Pro Tyr

50

55

60

Ala Asn Ser Phe Thr Pro Pro Ile Lys Ala Gln Tyr Val Arg Leu Tyr

65

70

75

80

Pro Gln Ile Cys Arg Arg His Cys Thr Leu Arg Met Glu Leu Leu Gly

85

90

95

Cys Glu Leu Ser Gly Cys Ser Glu Pro Leu Gly Met Lys Ser Gly His

100

105

110

Ile Gln Asp Tyr Gln Ile Thr Ala Ser Ser Val Phe Arg Thr Leu Asn

115

120

125

Met Asp Met

130

<210> 5
<211> 1044
<212> DNA
<213> *Mus musculus*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1044)
<223>

<400> 5
atg aag cac ttg gta gca gcc tgg ctt ttg gtt gga ctc agc ctc ggg 48
Met Lys His Leu Val Ala Ala Trp Leu Leu Val Gly Leu Ser Leu Gly
1 5 10 15

gtg ccc cag ttc ggc aaa ggt gac att tgc aac ccg aac ccc tgt gaa 96
Val Pro Gln Phe Gly Lys Gly Asp Ile Cys Asn Pro Asn Pro Cys Glu
20 25 30

aat ggt ggc atc tgt ctg tca gga ctg gct gat gat tcc ttt tcc tgt 144
Asn Gly Gly Ile Cys Leu Ser Gly Leu Ala Asp Asp Ser Phe Ser Cys
35 40 45

gag tgt cca gaa ggc ttc gca ggt ccg aac tgc tct agt gtt gtg gag 192
Glu Cys Pro Glu Gly Phe Ala Gly Pro Asn Cys Ser Ser Val Val Glu
50 55 60

gtt gca tca gat gaa gaa aag cct act tca gca ggt ccc tgc atc cct	240
Val Ala Ser Asp Glu Glu Lys Pro Thr Ser Ala Gly Pro Cys Ile Pro	
65 70 75 80	
aac cca tgc cat aac gga gga acc tgt gag ata agc gaa gcc tat cga	288
Asn Pro Cys His Asn Gly Gly Thr Cys Glu Ile Ser Glu Ala Tyr Arg	
85 90 95	
gga gac aca ttc ata ggc tat gtt tgt aaa tgt cct cgg gga ttt aat	336
Gly Asp Thr Phe Ile Gly Tyr Val Cys Lys Cys Pro Arg Gly Phe Asn	
100 105 110	
ggg att cac tgt cag cac aat ata aat gaa tgt gaa gct gag cct tgc	384
Gly Ile His Cys Gln His Asn Ile Asn Glu Cys Glu Ala Glu Pro Cys	
115 120 125	
aga aat ggc gga ata tgt acc gac ctt gtt gct aac tac tct tgt gaa	432
Arg Asn Gly Gly Ile Cys Thr Asp Leu Val Ala Asn Tyr Ser Cys Glu	
130 135 140	
tgc cca gga gaa ttt atg gga cga aat tgt caa tat aaa tgc tct ggg	480
Cys Pro Gly Glu Phe Met Gly Arg Asn Cys Gln Tyr Lys Cys Ser Gly	
145 150 155 160	
cca ttg gga atc gaa ggt ggg atc ata tct aat cag caa atc aca gct	528
Pro Leu Gly Ile Glu Gly Gly Ile Ile Ser Asn Gln Gln Ile Thr Ala	
165 170 175	
tca tct act cac cga gct ctt ttt gga ctc cgg aag tgg tat ccc tac	576

Ser Ser Thr His Arg Ala Leu Phe Gly Leu Arg Lys Trp Tyr Pro Tyr

180 185 190

tat gct cga ctt aat aag aag ggc ctt ata aat gcc tgg aca gct gct 624

Tyr Ala Arg Leu Asn Lys Lys Gly Leu Ile Asn Ala Trp Thr Ala Ala

195 200 205

gaa aat gac aga tgg cca tgg att cag ata aat ttg caa aga aaa atg 672

Glu Asn Asp Arg Trp Pro Trp Ile Gln Ile Asn Leu Gln Arg Lys Met

210 215 220

aga gtc act ggt gtt att acc caa gga gca aaa agg att gga agc cca 720

Arg Val Thr Gly Val Ile Thr Gln Gly Ala Lys Arg Ile Gly Ser Pro

225 230 235 240

gag tac ata aaa tcc tac aaa att gcc tac agc aat gac ggg aag acc 768

Glu Tyr Ile Lys Ser Tyr Lys Ile Ala Tyr Ser Asn Asp Gly Lys Thr

245 250 255

tgg gca atg tac aaa gta aaa ggc acc aat gaa gag atg gtc ttt cgt 816

Trp Ala Met Tyr Lys Val Lys Gly Thr Asn Glu Glu Met Val Phe Arg

260 265 270

gga aat gtt gat aac aac aca cca tat gct aat tct ttc aca ccc cca 864

Gly Asn Val Asp Asn Asn Thr Pro Tyr Ala Asn Ser Phe Thr Pro Pro

275 280 285

atc aaa gct cag tat gta aga ctc tac ccc caa att tgt cga agg cat 912

Ile Lys Ala Gln Tyr Val Arg Leu Tyr Pro Gln Ile Cys Arg Arg His

290

295

300

tgt act tta aga atg gaa ctt ctt ggc tgt gag ctc tca ggc tgt tca 960

Cys Thr Leu Arg Met Glu Leu Leu Gly Cys Glu Leu Ser Gly Cys Ser

305

310

315

320

gaa cct ttg ggg atg aaa tca ggg cat ata caa gac tac cag atc act 1008

Glu Pro Leu Gly Met Lys Ser Gly His Ile Gln Asp Tyr Gln Ile Thr

325

330

335

gcc tcc agc gtc ttc aga aca ctc aac atg gac atg 1044

Ala Ser Ser Val Phe Arg Thr Leu Asn Met Asp Met

340

345

<210> 6

<211> 348

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 6

Met Lys His Leu Val Ala Ala Trp Leu Leu Val Gly Leu Ser Leu Gly

1

5

10

15

Val Pro Gln Phe Gly Lys Gly Asp Ile Cys Asn Pro Asn Pro Cys Glu

20

25

30

Asn Gly Gly Ile Cys Leu Ser Gly Leu Ala Asp Asp Ser Phe Ser Cys

35

40

45

Glu Cys Pro Glu Gly Phe Ala Gly Pro Asn Cys Ser Ser Val Val Glu

50

55

60

Val Ala Ser Asp Glu Glu Lys Pro Thr Ser Ala Gly Pro Cys Ile Pro

65

70

75

80

Asn Pro Cys His Asn Gly Gly Thr Cys Glu Ile Ser Glu Ala Tyr Arg

85

90

95

Gly Asp Thr Phe Ile Gly Tyr Val Cys Lys Cys Pro Arg Gly Phe Asn

100

105

110

Gly Ile His Cys Gln His Asn Ile Asn Glu Cys Glu Ala Glu Pro Cys

115

120

125

Arg Asn Gly Gly Ile Cys Thr Asp Leu Val Ala Asn Tyr Ser Cys Glu

130

135

140

Cys Pro Gly Glu Phe Met Gly Arg Asn Cys Gln Tyr Lys Cys Ser Gly
145 150 155 160

Pro Leu Gly Ile Glu Gly Gly Ile Ile Ser Asn Gln Gln Ile Thr Ala
165 170 175

Ser Ser Thr His Arg Ala Leu Phe Gly Leu Arg Lys Trp Tyr Pro Tyr
180 185 190

Tyr Ala Arg Leu Asn Lys Lys Gly Leu Ile Asn Ala Trp Thr Ala Ala
195 200 205

Glu Asn Asp Arg Trp Pro Trp Ile Gln Ile Asn Leu Gln Arg Lys Met
210 215 220

Arg Val Thr Gly Val Ile Thr Gln Gly Ala Lys Arg Ile Gly Ser Pro
225 230 235 240

Glu Tyr Ile Lys Ser Tyr Lys Ile Ala Tyr Ser Asn Asp Gly Lys Thr
245 250 255

Trp Ala Met Tyr Lys Val Lys Gly Thr Asn Glu Glu Met Val Phe Arg

260

265

270

Gly Asn Val Asp Asn Asn Thr Pro Tyr Ala Asn Ser Phe Thr Pro Pro

275

280

285

Ile Lys Ala Gln Tyr Val Arg Leu Tyr Pro Gln Ile Cys Arg Arg His

290

295

300

Cys Thr Leu Arg Met Glu Leu Leu Gly Cys Glu Leu Ser Gly Cys Ser

305

310

315

320

Glu Pro Leu Gly Met Lys Ser Gly His Ile Gln Asp Tyr Gln Ile Thr

325

330

335

Ala Ser Ser Val Phe Arg Thr Leu Asn Met Asp Met

340

345

<210> 7

<211> 1095

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1095)

<223>

<400> 7

atg aag cac ttg gta gca gcc tgg ctt ttg gtt gga ctc agc ctc ggg 48

Met Lys His Leu Val Ala Ala Trp Leu Leu Val Gly Leu Ser Leu Gly

1 5 10 15

gtg ccc cag ttc ggc aaa ggt gac att tgc aac ccg aac ccc tgt gaa 96

Val Pro Gln Phe Gly Lys Gly Asp Ile Cys Asn Pro Asn Pro Cys Glu

20 25 30

aat ggt ggc atc tgt ctg tca gga ctg gct gat gat tcc ttt tcc tgt 144

Asn Gly Gly Ile Cys Leu Ser Gly Leu Ala Asp Asp Ser Phe Ser Cys

35 40 45

gag tgt cca gaa ggc ttc gca ggt ccg aac tgc tct agt gtt gtg gag 192

Glu Cys Pro Glu Gly Phe Ala Gly Pro Asn Cys Ser Ser Val Val Glu

50 55 60

gtt gca tca gat gaa gaa aag cct act tca gca ggt ccc tgc atc cct 240

Val Ala Ser Asp Glu Glu Lys Pro Thr Ser Ala Gly Pro Cys Ile Pro

65 70 75 80

aac cca tgc cat aac gga gga acc tgt gag ata agc gaa gcc tat cga 288

Asn Pro Cys His Asn Gly Gly Thr Cys Glu Ile Ser Glu Ala Tyr Arg

85 90 95

gga gac aca ttc ata ggc tat gtt tgt aaa tgt cct cgg gga ttt aat	336		
Gly Asp Thr Phe Ile Gly Tyr Val Cys Lys Cys Pro Arg Gly Phe Asn			
100	105	110	
ggg att cac tgt cag cac aat ata aat gaa tgt gaa gct gag cct tgc	384		
Gly Ile His Cys Gln His Asn Ile Asn Glu Cys Glu Ala Glu Pro Cys			
115	120	125	
aga aat ggc gga ata tgt acc gac ctt gtt gct aac tac tct tgt gaa	432		
Arg Asn Gly Gly Ile Cys Thr Asp Leu Val Ala Asn Tyr Ser Cys Glu			
130	135	140	
tgc cca gga gaa ttt atg gga cga aat tgt caa tat aaa tgc tct ggg	480		
Cys Pro Gly Glu Phe Met Gly Arg Asn Cys Gln Tyr Lys Cys Ser Gly			
145	150	155	160
cca ttg gga atc gaa ggt ggg atc ata tct aat cag caa atc aca gct	528		
Pro Leu Gly Ile Glu Gly Gly Ile Ile Ser Asn Gln Gln Ile Thr Ala			
165	170	175	
tca tct act cac cga gct ctt ttt gga ctc cgg aag tgg tat ccc tac	576		
Ser Ser Thr His Arg Ala Leu Phe Gly Leu Arg Lys Trp Tyr Pro Tyr			
180	185	190	
tat gct cga ctt aat aag aag ggc ctt ata aat gcc tgg aca gct gct	624		
Tyr Ala Arg Leu Asn Lys Lys Gly Leu Ile Asn Ala Trp Thr Ala Ala			
195	200	205	
gaa aat gac aga tgg cca tgg att cag ata aat ttg caa aga aaa atg	672		

Glu Asn Asp Arg Trp Pro Trp Ile Gln Ile Asn Leu Gln Arg Lys Met

210 215 220

aga gtc act ggt gtt att acc caa gga gca aaa agg att gga agc cca 720

Arg Val Thr Gly Val Ile Thr Gln Gly Ala Lys Arg Ile Gly Ser Pro

225 230 235 240

gag tac ata aaa tcc tac aaa att gcc tac agc aat gac ggg aag acc 768

Glu Tyr Ile Lys Ser Tyr Lys Ile Ala Tyr Ser Asn Asp Gly Lys Thr

245 250 255

tgg gca atg tac aaa gta aaa ggc acc aat gaa gag atg gtc ttt cgt 816

Trp Ala Met Tyr Lys Val Lys Gly Thr Asn Glu Glu Met Val Phe Arg

260 265 270

gga aat gtt gat aac aac aca cca tat gct aat tct ttc aca ccc cca 864

Gly Asn Val Asp Asn Asn Thr Pro Tyr Ala Asn Ser Phe Thr Pro Pro

275 280 285

atc aaa gct cag tat gta aga ctc tac ccc caa att tgt cga agg cat 912

Ile Lys Ala Gln Tyr Val Arg Leu Tyr Pro Gln Ile Cys Arg Arg His

290 295 300

tgt act tta aga atg gaa ctt ctt ggc tgt gag ctc tca ggc tgt tca 960

Cys Thr Leu Arg Met Glu Leu Leu Gly Cys Glu Leu Ser Gly Cys Ser

305 310 315 320

gaa cct ttg ggg atg aaa tca ggg cat ata caa gac tac cag atc act 1008

Glu Pro Leu Gly Met Lys Ser Gly His Ile Gln Asp Tyr Gln Ile Thr

325

330

335

gcc tcc agc gtc ttc aga aca ctc aac atg gac atg ttt act tgg gaa 1056
 Ala Ser Ser Val Phe Arg Thr Leu Asn Met Asp Met Phe Thr Trp Glu

340

345

350

cca agg aaa gcc agg ctg gac aag caa ggc aaa gta aat 1095
 Pro Arg Lys Ala Arg Leu Asp Lys Gln Gly Lys Val Asn

355

360

365

<210> 8

<211> 365

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 8

Met Lys His Leu Val Ala Ala Trp Leu Leu Val Gly Leu Ser Leu Gly
 1 5 10 15

Val Pro Gln Phe Gly Lys Gly Asp Ile Cys Asn Pro Asn Pro Cys Glu
 20 25 30

Asn Gly Gly Ile Cys Leu Ser Gly Leu Ala Asp Asp Ser Phe Ser Cys
 35 40 45

Glu Cys Pro Glu Gly Phe Ala Gly Pro Asn Cys Ser Ser Val Val Glu

50 55 60

Val Ala Ser Asp Glu Glu Lys Pro Thr Ser Ala Gly Pro Cys Ile Pro

65 70 75 80

Asn Pro Cys His Asn Gly Gly Thr Cys Glu Ile Ser Glu Ala Tyr Arg

85 90 95

Gly Asp Thr Phe Ile Gly Tyr Val Cys Lys Cys Pro Arg Gly Phe Asn

100 105 110

Gly Ile His Cys Gln His Asn Ile Asn Glu Cys Glu Ala Glu Pro Cys

115 120 125

Arg Asn Gly Gly Ile Cys Thr Asp Leu Val Ala Asn Tyr Ser Cys Glu

130 135 140

Cys Pro Gly Glu Phe Met Gly Arg Asn Cys Gln Tyr Lys Cys Ser Gly

145 150 155 160

Pro Leu Gly Ile Glu Gly Gly Ile Ile Ser Asn Gln Gln Ile Thr Ala

165

170

175

Ser Ser Thr His Arg Ala Leu Phe Gly Leu Arg Lys Trp Tyr Pro Tyr

180

185

190

Tyr Ala Arg Leu Asn Lys Lys Gly Leu Ile Asn Ala Trp Thr Ala Ala

195

200

205

Glu Asn Asp Arg Trp Pro Trp Ile Gln Ile Asn Leu Gln Arg Lys Met

210

215

220

Arg Val Thr Gly Val Ile Thr Gln Gly Ala Lys Arg Ile Gly Ser Pro

225

230

235

240

Glu Tyr Ile Lys Ser Tyr Lys Ile Ala Tyr Ser Asn Asp Gly Lys Thr

245

250

255

Trp Ala Met Tyr Lys Val Lys Gly Thr Asn Glu Glu Met Val Phe Arg

260

265

270

Gly Asn Val Asp Asn Asn Thr Pro Tyr Ala Asn Ser Phe Thr Pro Pro

275

280

285

Ile Lys Ala Gln Tyr Val Arg Leu Tyr Pro Gln Ile Cys Arg Arg His

290

295

300

Cys Thr Leu Arg Met Glu Leu Leu Gly Cys Glu Leu Ser Gly Cys Ser

305

310

315

320

Glu Pro Leu Gly Met Lys Ser Gly His Ile Gln Asp Tyr Gln Ile Thr

325

330

335

Ala Ser Ser Val Phe Arg Thr Leu Asn Met Asp Met Phe Thr Trp Glu

340

345

350

Pro Arg Lys Ala Arg Leu Asp Lys Gln Gly Lys Val Asn

355

360

365

<210> 9

<211> 1104

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1104)

<223>

<400> 9

atg aag cac ttg gta gca gcc tgg ctt ttg gtt gga ctc agc ctc ggg 48
 Met Lys His Leu Val Ala Ala Trp Leu Leu Val Gly Leu Ser Leu Gly
 1 5 10 15

gtg ccc cag ttc ggc aaa ggt gac att tgc aac ccg aac ccc tgt gaa 96
 Val Pro Gln Phe Gly Lys Gly Asp Ile Cys Asn Pro Asn Pro Cys Glu
 20 25 30

aat ggt ggc atc tgt ctg tca gga ctg gct gat gat tcc ttt tcc tgt 144
 Asn Gly Gly Ile Cys Leu Ser Gly Leu Ala Asp Asp Ser Phe Ser Cys
 35 40 45

gag tgt cca gaa ggc ttc gca ggt ccg aac tgc tct agt gtt gtg gag 192
 Glu Cys Pro Glu Gly Phe Ala Gly Pro Asn Cys Ser Ser Val Val Glu
 50 55 60

gtt gca tca gat gaa gaa aag cct act tca gca ggt ccc tgc atc cct 240
 Val Ala Ser Asp Glu Glu Lys Pro Thr Ser Ala Gly Pro Cys Ile Pro
 65 70 75 80

aac cca tgc cat aac gga gga acc tgt gag ata agc gaa gcc tat cga 288
 Asn Pro Cys His Asn Gly Gly Thr Cys Glu Ile Ser Glu Ala Tyr Arg
 85 90 95

gga gac aca ttc ata ggc tat gtt tgt aaa tgt cct cgg gga ttt aat	336
Gly Asp Thr Phe Ile Gly Tyr Val Cys Lys Cys Pro Arg Gly Phe Asn	
100 105 110	
ggg att cac tgt cag cac aat ata aat gaa tgt gaa gct gag cct tgc	384
Cly Ile His Cys Gln His Asn Ile Asn Glu Cys Glu Ala Glu Pro Cys	
115 120 125	
aga aat ggc gga ata tgt acc gac ctt gtt gct aac tac tct tgt gaa	432
Arg Asn Gly Gly Ile Cys Thr Asp Leu Val Ala Asn Tyr Ser Cys Glu	
130 135 140	
tgc cca gga gaa ttt atg gga cga aat tgt caa tat aaa tgc tct ggg	480
Cys Pro Gly Glu Phe Met Gly Arg Asn Cys Gln Tyr Lys Cys Ser Gly	
145 150 155 160	
cca ttg gga atc gaa ggt ggg atc ata tct aat cag caa atc aca gct	528
Pro Leu Gly Ile Glu Gly Ile Ile Ser Asn Gln Gln Ile Thr Ala	
165 170 175	
tca tct act cac cga gct ctt ttt gga ctc cgg aag tgg tat ccc tac	576
Ser Ser Thr His Arg Ala Leu Phe Gly Leu Arg Lys Trp Tyr Pro Tyr	
180 185 190	
tat gct cga ctt aat aag aag ggc ctt ata aat gcc tgg aca gct gct	624
Tyr Ala Arg Leu Asn Lys Lys Gly Leu Ile Asn Ala Trp Thr Ala Ala	
195 200 205	
gaa aat gac aga tgg cca tgg att cag ata aat ttg caa aga aaa atg	672

Glu Asn Asp Arg Trp Pro Trp Ile Gln Ile Asn Leu Gln Arg Lys Met

210 215 220

aga gtc act ggt gtt att acc caa gga gca aaa agg att gga agc cca 720

Arg Val Thr Gly Val Ile Thr Gln Gly Ala Lys Arg Ile Gly Ser Pro

225 230 235 240

gag tac ata aaa tcc tac aaa att gcc tac agc aat gac ggg aag acc 768

Glu Tyr Ile Lys Ser Tyr Lys Ile Ala Tyr Ser Asn Asp Gly Lys Thr

245 250 255

tgg gca atg tac aaa gta aaa ggc acc aat gaa gag atg gtc ttt cgt 816

Trp Ala Met Tyr Lys Val Lys Gly Thr Asn Glu Glu Met Val Phe Arg

260 265 270

gga aat gtt gat aac aac aca cca tat gct aat tct ttc aca ccc cca 864

Gly Asn Val Asp Asn Asn Thr Pro Tyr Ala Asn Ser Phe Thr Pro Pro

275 280 285

atc aaa gct cag tat gta aga ctc tac ccc caa att tgt cga agg cat 912

Ile Lys Ala Gln Tyr Val Arg Leu Tyr Pro Gln Ile Cys Arg Arg His

290 295 300

tgt act tta aga atg gaa ctt ctt ggc tgt gag ctc tca ggc tgt tca 960

Cys Thr Leu Arg Met Glu Leu Leu Gly Cys Glu Leu Ser Gly Cys Ser

305 310 315 320

gaa cct ttg ggg atg aaa tca ggg cat ata caa gac tac cag atc act 1008

Glu Pro Leu Gly Met Lys Ser Gly His Ile Gln Asp Tyr Gln Ile Thr

325

330

335

gcc tcc agc gtc ttc aga aca ctc aac atg gac atg ttt act tgg gaa 1056

Ala Ser Ser Val Phe Arg Thr Leu Asn Met Asp Met Phe Thr Trp Glu

340

345

350

cca agg aaa gcc agg ctg gac aag caa ggc aaa gta aat gcc tgg act 1104

Pro Arg Lys Ala Arg Leu Asp Lys Gln Gly Lys Val Asn Ala Trp Thr

355

360

365

<210> 10

<211> 368

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 10

Met Lys His Leu Val Ala Ala Trp Leu Leu Val Gly Leu Ser Leu Gly

1

5

10

15

Val Pro Gln Phe Gly Lys Gly Asp Ile Cys Asn Pro Asn Pro Cys Glu

20

25

30

Asn Gly Gly Ile Cys Leu Ser Gly Leu Ala Asp Asp Ser Phe Ser Cys

35

40

45

Glu Cys Pro Glu Gly Phe Ala Gly Pro Asn Cys Ser Ser Val Val Glu

50 55 60

Val Ala Ser Asp Glu Glu Lys Pro Thr Ser Ala Gly Pro Cys Ile Pro

65 70 75 80

Asn Pro Cys His Asn Gly Gly Thr Cys Glu Ile Ser Glu Ala Tyr Arg

85 90 95

Gly Asp Thr Phe Ile Gly Tyr Val Cys Lys Cys Pro Arg Gly Phe Asn

100 105 110

Gly Ile His Cys Gln His Asn Ile Asn Glu Cys Glu Ala Glu Pro Cys

115 120 125

Arg Asn Gly Gly Ile Cys Thr Asp Leu Val Ala Asn Tyr Ser Cys Glu

130 135 140

Cys Pro Gly Glu Phe Met Gly Arg Asn Cys Gln Tyr Lys Cys Ser Gly

145 150 155 160

Pro Leu Gly Ile Glu Gly Gly Ile Ile Ser Asn Gln Gln Ile Thr Ala

165

170

175

Ser Ser Thr His Arg Ala Leu Phe Gly Leu Arg Lys Trp Tyr Pro Tyr

180

185

190

Tyr Ala Arg Leu Asn Lys Lys Gly Leu Ile Asn Ala Trp Thr Ala Ala

195

200

205

Glu Asn Asp Arg Trp Pro Trp Ile Gln Ile Asn Leu Gln Arg Lys Met

210

215

220

Arg Val Thr Gly Val Ile Thr Gln Gly Ala Lys Arg Ile Gly Ser Pro

225

230

235

240

Glu Tyr Ile Lys Ser Tyr Lys Ile Ala Tyr Ser Asn Asp Gly Lys Thr

245

250

255

Trp Ala Met Tyr Lys Val Lys Gly Thr Asn Glu Glu Met Val Phe Arg

260

265

270

Gly Asn Val Asp Asn Asn Thr Pro Tyr Ala Asn Ser Phe Thr Pro Pro

275

280

285

Ile Lys Ala Gln Tyr Val Arg Leu Tyr Pro Gln Ile Cys Arg Arg His

290

295

300

Cys Thr Leu Arg Met Glu Leu Leu Gly Cys Glu Leu Ser Gly Cys Ser

305

310

315

320

Glu Pro Leu Gly Met Lys Ser Gly His Ile Gln Asp Tyr Gln Ile Thr

325

330

335

Ala Ser Ser Val Phe Arg Thr Leu Asn Met Asp Met Phe Thr Trp Glu

340

345

350

Pro Arg Lys Ala Arg Leu Asp Lys Gln Gly Lys Val Asn Ala Trp Thr

355

360

365

<210> 11

<211> 1155

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1155)

<223>

<400> 11

atg aag cac ttg gta gca gcc tgg ctt ttg gtt gga ctc agc ctc ggg 48
 Met Lys His Leu Val Ala Ala Trp Leu Leu Val Gly Leu Ser Leu Gly
 1 5 10 15

gtg ccc cag ttc ggc aaa ggt gac att tgc aac ccg aac ccc tgt gaa 96
 Val Pro Gln Phe Gly Lys Gly Asp Ile Cys Asn Pro Asn Pro Cys Glu
 20 25 30

aat ggt ggc atc tgt ctg tca gga ctg gct gat gat tcc ttt tcc tgt 144
 Asn Gly Gly Ile Cys Leu Ser Gly Leu Ala Asp Asp Ser Phe Ser Cys
 35 40 45

gag tgt cca gaa ggc ttc gca ggt ccg aac tgc tct agt gtt gtg gag 192
 Glu Cys Pro Glu Gly Phe Ala Gly Pro Asn Cys Ser Ser Val Val Glu
 50 55 60

gtt gca tca gat gaa gaa aag cct act tca gca ggt ccc tgc atc cct 240
 Val Ala Ser Asp Glu Glu Lys Pro Thr Ser Ala Gly Pro Cys Ile Pro
 65 70 75 80

aac cca tgc cat aac gga gga acc tgt gag ata agc gaa gcc tat cga 288
 Asn Pro Cys His Asn Gly Gly Thr Cys Glu Ile Ser Glu Ala Tyr Arg
 85 90 95

gga gac aca ttc ata ggc tat gtt tgt aaa tgt cct cgg gga ttt aat	336		
Gly Asp Thr Phe Ile Gly Tyr Val Cys Lys Cys Pro Arg Gly Phe Asn			
100	105	110	
ggg att cac tgt cag cac aat ata aat gaa tgt gaa gct gag cct tgc	384		
Gly Ile His Cys Gln His Asn Ile Asn Glu Cys Glu Ala Glu Pro Cys			
115	120	125	
aga aat ggc gga ata tgt acc gac ctt gtt gct aac tac tct tgt gaa	432		
Arg Asn Gly Gly Ile Cys Thr Asp Leu Val Ala Asn Tyr Ser Cys Glu			
130	135	140	
tgc cca gga gaa ttt atg gga cga aat tgt caa tat aaa tgc tct ggg	480		
Cys Pro Gly Glu Phe Met Gly Arg Asn Cys Gln Tyr Lys Cys Ser Gly			
145	150	155	160
cca ttg gga atc gaa ggt ggg atc ata tct aat cag caa atc aca gct	528		
Pro Leu Gly Ile Glu Gly Gly Ile Ile Ser Asn Gln Gln Ile Thr Ala			
165	170	175	
tca tct act cac cga gct ctt ttt gga ctc cgg aag tgg tat ccc tac	576		
Ser Ser Thr His Arg Ala Leu Phe Gly Leu Arg Lys Trp Tyr Pro Tyr			
180	185	190	
tat gct cga ctt aat aag aag ggc ctt ata aat gcc tgg aca gct gct	624		
Tyr Ala Arg Leu Asn Lys Lys Gly Leu Ile Asn Ala Trp Thr Ala Ala			
195	200	205	
gaa aat gac aga tgg cca tgg att cag ata aat ttg caa aga aaa atg	672		

Glu Asn Asp Arg Trp Pro Trp Ile Gln Ile Asn Leu Gln Arg Lys Met

210 215 220

aga gtc act ggt gtt att acc caa gga gca aaa agg att gga agc cca 720

Arg Val Thr Gly Val Ile Thr Gln Gly Ala Lys Arg Ile Gly Ser Pro

225 230 235 240

gag tac ata aaa tcc tac aaa att gcc tac agc aat gac ggg aag acc 768

Glu Tyr Ile Lys Ser Tyr Lys Ile Ala Tyr Ser Asn Asp Gly Lys Thr

245 250 255

tgg gca atg tac aaa gta aaa ggc acc aat gaa gag atg gtc ttt cgt 816

Trp Ala Met Tyr Lys Val Lys Gly Thr Asn Glu Glu Met Val Phe Arg

260 265 270

gga aat gtt gat aac aac aca cca tat gct aat tct ttc aca ccc cca 864

Gly Asn Val Asp Asn Asn Thr Pro Tyr Ala Asn Ser Phe Thr Pro Pro

275 280 285

atc aaa gct cag tat gta aga ctc tac ccc caa att tgt cga agg cat 912

Ile Lys Ala Gln Tyr Val Arg Leu Tyr Pro Gln Ile Cys Arg Arg His

290 295 300

tgt act tta aga atg gaa ctt ctt ggc tgt gag ctc tca ggc tgt tca 960

Cys Thr Leu Arg Met Glu Leu Leu Gly Cys Glu Leu Ser Gly Cys Ser

305 310 315 320

gaa cct ttg ggg atg aaa tca ggg cat ata caa gac tac cag atc act 1008

Glu Pro Leu Gly Met Lys Ser Gly His Ile Gln Asp Tyr Gln Ile Thr

325

330

335

gcc tcc agc gtc ttc aga aca ctc aac atg gac atg ttt act tgg gaa 1056

Ala Ser Ser Val Phe Arg Thr Leu Asn Met Asp Met Phe Thr Trp Glu

340

345

350

cca agg aaa gcc agg ctg gac aag caa ggc aaa gta aat gcc tgg act 1104

Pro Arg Lys Ala Arg Leu Asp Lys Gln Gly Lys Val Asn Ala Trp Thr

355

360

365

tcc ggc cat aac gac cag tca caa tgg tta cag gtt gat ctt ctt gtc 1152

Ser Gly His Asn Asp Gln Ser Gln Trp Leu Gln Val Asp Leu Leu Val

370

375

380

cct 1155

Pro

385

<210> 12

<211> 385

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 12

Met Lys His Leu Val Ala Ala Trp Leu Leu Val Gly Leu Ser Leu Gly

1

5

10

15

Val Pro Gln Phe Gly Lys Gly Asp Ile Cys Asn Pro Asn Pro Cys Glu

20

25

30

Asn Gly Gly Ile Cys Leu Ser Gly Leu Ala Asp Asp Ser Phe Ser Cys

35

40

45

Glu Cys Pro Glu Gly Phe Ala Gly Pro Asn Cys Ser Ser Val Val Glu

50

55

60

Val Ala Ser Asp Glu Glu Lys Pro Thr Ser Ala Gly Pro Cys Ile Pro

65

70

75

80

Asn Pro Cys His Asn Gly Gly Thr Cys Glu Ile Ser Glu Ala Tyr Arg

85

90

95

Gly Asp Thr Phe Ile Gly Tyr Val Cys Lys Cys Pro Arg Gly Phe Asn

100

105

110

Gly Ile His Cys Gln His Asn Ile Asn Glu Cys Glu Ala Glu Pro Cys

115

120

125

Arg Asn Gly Gly Ile Cys Thr Asp Leu Val Ala Asn Tyr Ser Cys Glu

130 135 140

Cys Pro Gly Glu Phe Met Gly Arg Asn Cys Gln Tyr Lys Cys Ser Gly

145 150 155 160

Pro Leu Gly Ile Glu Gly Gly Ile Ile Ser Asn Gln Gln Ile Thr Ala

165 170 175

Ser Ser Thr His Arg Ala Leu Phe Gly Leu Arg Lys Trp Tyr Pro Tyr

180 185 190

Tyr Ala Arg Leu Asn Lys Lys Gly Leu Ile Asn Ala Trp Thr Ala Ala

195 200 205

Glu Asn Asp Arg Trp Pro Trp Ile Gln Ile Asn Leu Gln Arg Lys Met

210 215 220

Arg Val Thr Gly Val Ile Thr Gln Gly Ala Lys Arg Ile Gly Ser Pro

225 230 235 240

Glu Tyr Ile Lys Ser Tyr Lys Ile Ala Tyr Ser Asn Asp Gly Lys Thr

245

250

255

Trp Ala Met Tyr Lys Val Lys Gly Thr Asn Glu Glu Met Val Phe Arg

260

265

270

Gly Asn Val Asp Asn Asn Thr Pro Tyr Ala Asn Ser Phe Thr Pro Pro

275

280

285

Ile Lys Ala Gln Tyr Val Arg Leu Tyr Pro Gln Ile Cys Arg Arg His

290

295

300

Cys Thr Leu Arg Met Glu Leu Leu Gly Cys Glu Leu Ser Gly Cys Ser

305

310

315

320

Glu Pro Leu Gly Met Lys Ser Gly His Ile Gln Asp Tyr Gln Ile Thr

325

330

335

Ala Ser Ser Val Phe Arg Thr Leu Asn Met Asp Met Phe Thr Trp Glu

340

345

350

Pro Arg Lys Ala Arg Leu Asp Lys Gln Gly Lys Val Asn Ala Trp Thr

355

360

365

Ser Gly His Asn Asp Gln Ser Gln Trp Leu Gln Val Asp Leu Leu Val

370

375

380

Pro

385

<210> 13

<211> 789

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(789)

<223>

<400> 13

ata aat ttg caa aga aaa atg aga gtc act ggt gtt att acc caa gga 48

Ile Asn Leu Gln Arg Lys Met Arg Val Thr Gly Val Ile Thr Gln Gly

1

5

10

15

gca aaa agg att gga agc cca gag tac ata aaa tcc tac aaa att gcc 96

Ala Lys Arg Ile Gly Ser Pro Glu Tyr Ile Lys Ser Tyr Lys Ile Ala

20

25

30

tac agc aat gac ggg aag acc tgg gca atg tac aaa gta aaa ggc acc	144		
Tyr Ser Asn Asp Gly Lys Thr Trp Ala Met Tyr Lys Val Lys Gly Thr			
35	40	45	
aat gaa gag atg gtc ttt cgt gga aat gtt gat aac aac aca cca tat	192		
Asn Glu Glu Met Val Phe Arg Gly Asn Val Asp Asn Asn Thr Pro Tyr			
50	55	60	
gct aat tct ttc aca ccc cca atc aaa gct cag tat gta aga ctc tac	240		
Ala Asn Ser Phe Thr Pro Pro Ile Lys Ala Gln Tyr Val Arg Leu Tyr			
65	70	75	80
ccc caa att tgt cga agg cat tgt act tta aga atg gaa ctt ctt ggc	288		
Pro Gln Ile Cys Arg Arg His Cys Thr Leu Arg Met Glu Leu Leu Gly			
85	90	95	
tgt gag ctc tca ggc tgt tca gaa cct ttg ggg atg aaa tca ggg cat	336		
Cys Glu Leu Ser Gly Cys Ser Glu Pro Leu Gly Met Lys Ser Gly His			
100	105	110	
ata caa gac tac cag atc act gcc tcc agc gtc ttc aga aca ctc aac	384		
Ile Gln Asp Tyr Gln Ile Thr Ala Ser Ser Val Phe Arg Thr Leu Asn			
115	120	125	
atg gac atg ttt act tgg gaa cca agg aaa gcc agg ctg gac aag caa	432		
Met Asp Met Phe Thr Trp Glu Pro Arg Lys Ala Arg Leu Asp Lys Gln			
130	135	140	
ggc aaa gta aat gcc tgg act tcc ggc cat aac gac cag tca caa tgg	480		

Gly Lys Val Asn Ala Trp Thr Ser Gly His Asn Asp Gln Ser Gln Trp
 145 150 155 160

tta cag gtt gat ctt ctt gtc cct act aag gtg aca ggc atc att aca 528
 Leu Gln Val Asp Leu Leu Val Pro Thr Lys Val Thr Gly Ile Ile Thr
 165 170 175

caa gga gct aaa gat ttt ggt cac gtg cag ttt gtt ggg tca tac aaa 576
 Gln Gly Ala Lys Asp Phe Gly His Val Gln Phe Val Gly Ser Tyr Lys
 180 185 190

cta gct tac agc aat gat gga gaa cac tgg atg gtg cac cag gat gaa 624
 Leu Ala Tyr Ser Asn Asp Gly Glu His Trp Met Val His Gln Asp Glu
 195 200 205

aaa cag agg aaa gac aag gtt ttt caa ggc aat ttt gac aat gac act 672
 Lys Gln Arg Lys Asp Lys Val Phe Gln Gly Asn Phe Asp Asn Asp Thr
 210 215 220

cac agg aaa aat gtc atc gac cct ccc atc tat gca cga ttc ata aga 720
 His Arg Lys Asn Val Ile Asp Pro Pro Ile Tyr Ala Arg Phe Ile Arg
 225 230 235 240

atc ctt cct tgg tcc tgg tat gga agg atc act ctg cgg tca gag ctg 768
 Ile Leu Pro Trp Ser Trp Tyr Gly Arg Ile Thr Leu Arg Ser Glu Leu
 245 250 255

ctg ggc tgc gca gag gag gaa 789
 Leu Gly Cys Ala Glu Glu Glu

260

<210> 14

<211> 263

<212> PRT

<213> *Mus musculus*

<400> 14

Ile Asn Leu Gln Arg Lys Met Arg Val Thr Gly Val Ile Thr Gln Gly
1 5 10 15

Ala Lys Arg Ile Gly Ser Pro Glu Tyr Ile Lys Ser Tyr Lys Ile Ala
20 25 30

Tyr Ser Asn Asp Gly Lys Thr Trp Ala Met Tyr Lys Val Lys Gly Thr
35 40 45

Asn Glu Glu Met Val Phe Arg Gly Asn Val Asp Asn Asn Thr Pro Tyr
50 55 60

Ala Asn Ser Phe Thr Pro Pro Ile Lys Ala Gln Tyr Val Arg Leu Tyr
65 70 75 80

Pro Gln Ile Cys Arg Arg His Cys Thr Leu Arg Met Glu Leu Leu Gly

85 90 95

Cys Glu Leu Ser Gly Cys Ser Glu Pro Leu Gly Met Lys Ser Gly His

100 105 110

Ile Gln Asp Tyr Gln Ile Thr Ala Ser Ser Val Phe Arg Thr Leu Asn

115 120 125

Met Asp Met Phe Thr Trp Glu Pro Arg Lys Ala Arg Leu Asp Lys Gln

130 135 140

Gly Lys Val Asn Ala Trp Thr Ser Gly His Asn Asp Gln Ser Gln Trp

145 150 155 160

Leu Gln Val Asp Leu Leu Val Pro Thr Lys Val Thr Gly Ile Ile Thr

165 170 175

Gln Gly Ala Lys Asp Phe Gly His Val Gln Phe Val Gly Ser Tyr Lys

180 185 190

Leu Ala Tyr Ser Asn Asp Gly Glu His Trp Met Val His Gln Asp Glu

195

200

205

Lys Gln Arg Lys Asp Lys Val Phe Gln Gly Asn Phe Asp Asn Asp Thr

210

215

220

His Arg Lys Asn Val Ile Asp Pro Pro Ile Tyr Ala Arg Phe Ile Arg

225

230

235

240

Ile Leu Pro Trp Ser Trp Tyr Gly Arg Ile Thr Leu Arg Ser Glu Leu

245

250

255

Leu Gly Cys Ala Glu Glu Glu

260

<210> 15

<211> 306

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(306)

<223>

<400> 15

ata aat ttg caa aga aaa atg aga gtc act ggt gtt att acc caa gga 48

Ile Asn Leu Gln Arg Lys Met Arg Val Thr Gly Val Ile Thr Gln Gly

1 5 10 15

gca aaa agg att gga agc cca gag tac ata aaa tcc tac aaa att gcc 96

Ala Lys Arg Ile Gly Ser Pro Glu Tyr Ile Lys Ser Tyr Lys Ile Ala

20 25 30

tac agc aat gac ggg aag acc tgg gca atg tac aaa gta aaa ggc acc 144

Tyr Ser Asn Asp Gly Lys Thr Trp Ala Met Tyr Lys Val Lys Gly Thr

35 40 45

aat gaa gag atg gtc ttt cgt gga aat gtt gat aac aac aca cca tat 192

Asn Glu Glu Met Val Phe Arg Gly Asn Val Asp Asn Asn Thr Pro Tyr

50 55 60

gct aat tct ttc aca ccc cca atc aaa gct cag tat gta aga ctc tac 240

Ala Asn Ser Phe Thr Pro Pro Ile Lys Ala Gln Tyr Val Arg Leu Tyr

65 70 75 80

ccc caa att tgt cga agg cat tgt act tta aga atg gaa ctt ctt ggc 288

Pro Gln Ile Cys Arg Arg His Cys Thr Leu Arg Met Glu Leu Leu Gly

85 90 95

tgt gag ctc tca ggc tgt 306

Cys Glu Leu Ser Gly Cys

100

<210> 16

<211> 102

<212> PRT

<213> *Mus musculus*

<400> 16

Ile Asn Leu Gln Arg Lys Met Arg Val Thr Gly Val Ile Thr Gln Gly

1

5

10

15

Ala Lys Arg Ile Gly Ser Pro Glu Tyr Ile Lys Ser Tyr Lys Ile Ala

20

25

30

Tyr Ser Asn Asp Gly Lys Thr Trp Ala Met Tyr Lys Val Lys Gly Thr

35

40

45

Asn Glu Glu Met Val Phe Arg Gly Asn Val Asp Asn Asn Thr Pro Tyr

50

55

60

Ala Asn Ser Phe Thr Pro Pro Ile Lys Ala Gln Tyr Val Arg Leu Tyr

65

70

75

80

Pro Gln Ile Cys Arg Arg His Cys Thr Leu Arg Met Glu Leu Leu Gly

85

90

95

Cys Glu Leu Ser Gly Cys

100

<210> 17

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DNA

<400> 17

aaagatctaa cccgaacccc tgtgaa

26

<210> 18

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DNA

<400> 18

aactcgagca ttgtggatg tgcg

24

【図面の簡単な説明】

【図 1】

本発明のDel-1部分断片の模式図である。

【図 2】

本発明のDel-1部分断片の細胞外基質への結合活性を示す図である。

【図 3】

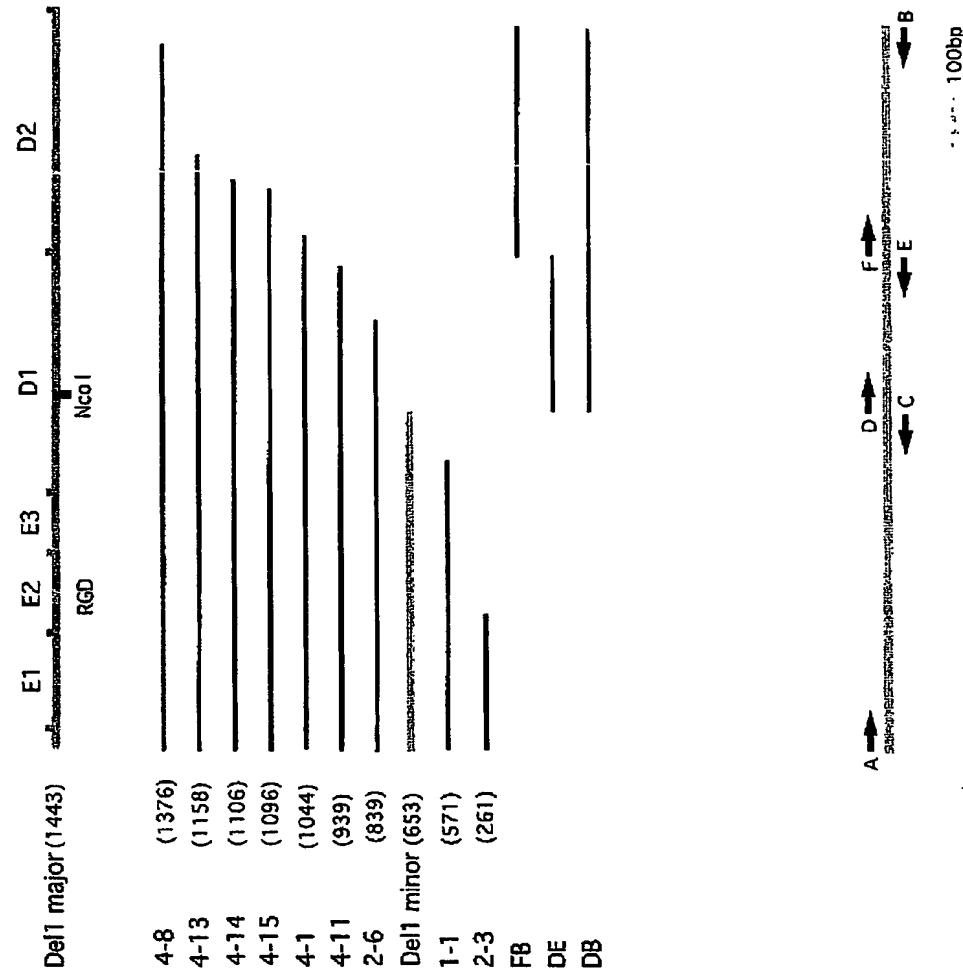
本発明のDel-1部分断片の細胞外基質への結合活性を示す図である。

【図 4】

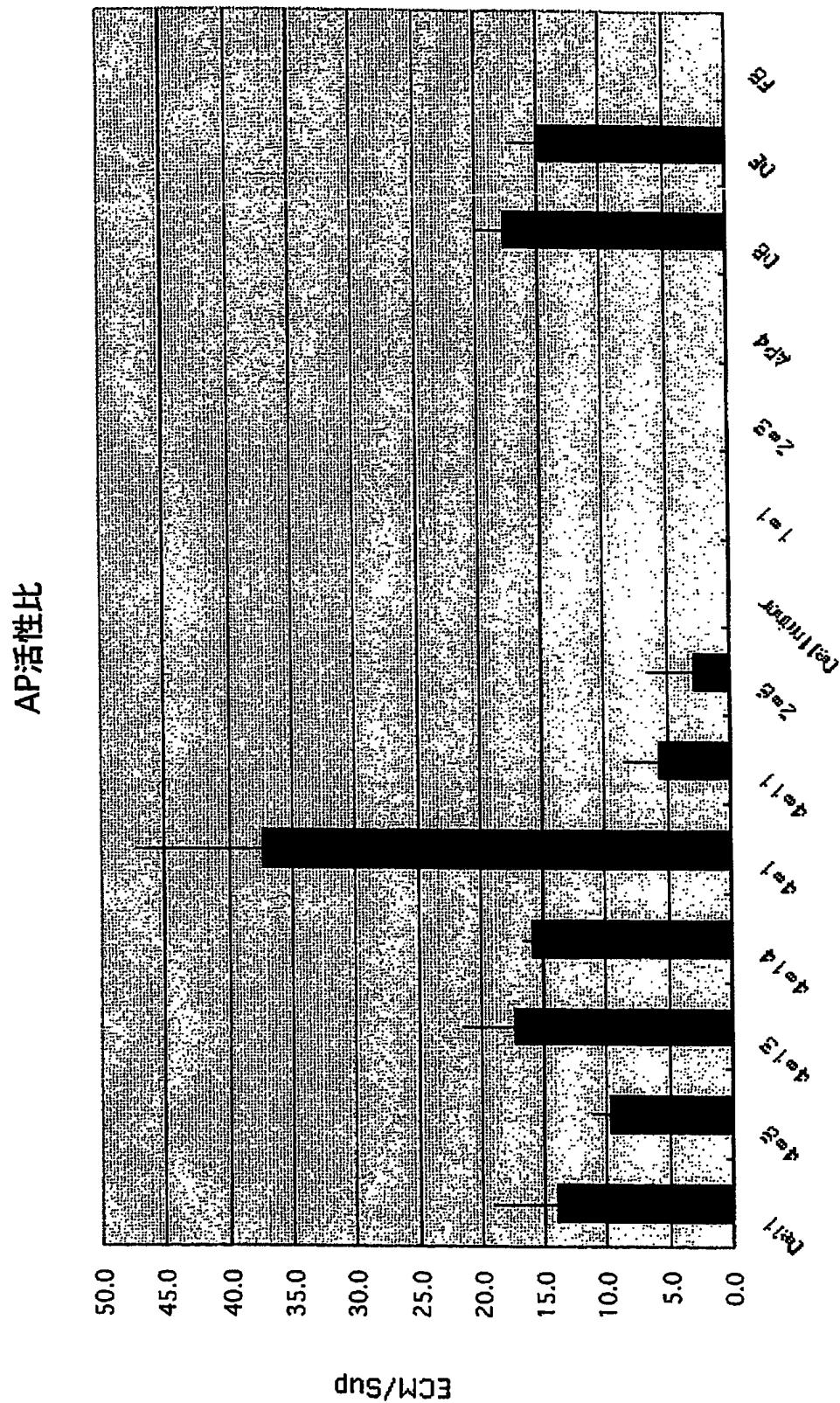
アルカリホスファターゼの回収結果を示す図である。

【書類名】 図面

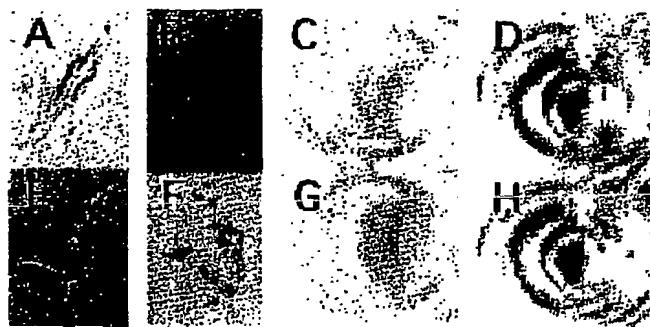
【図 1】



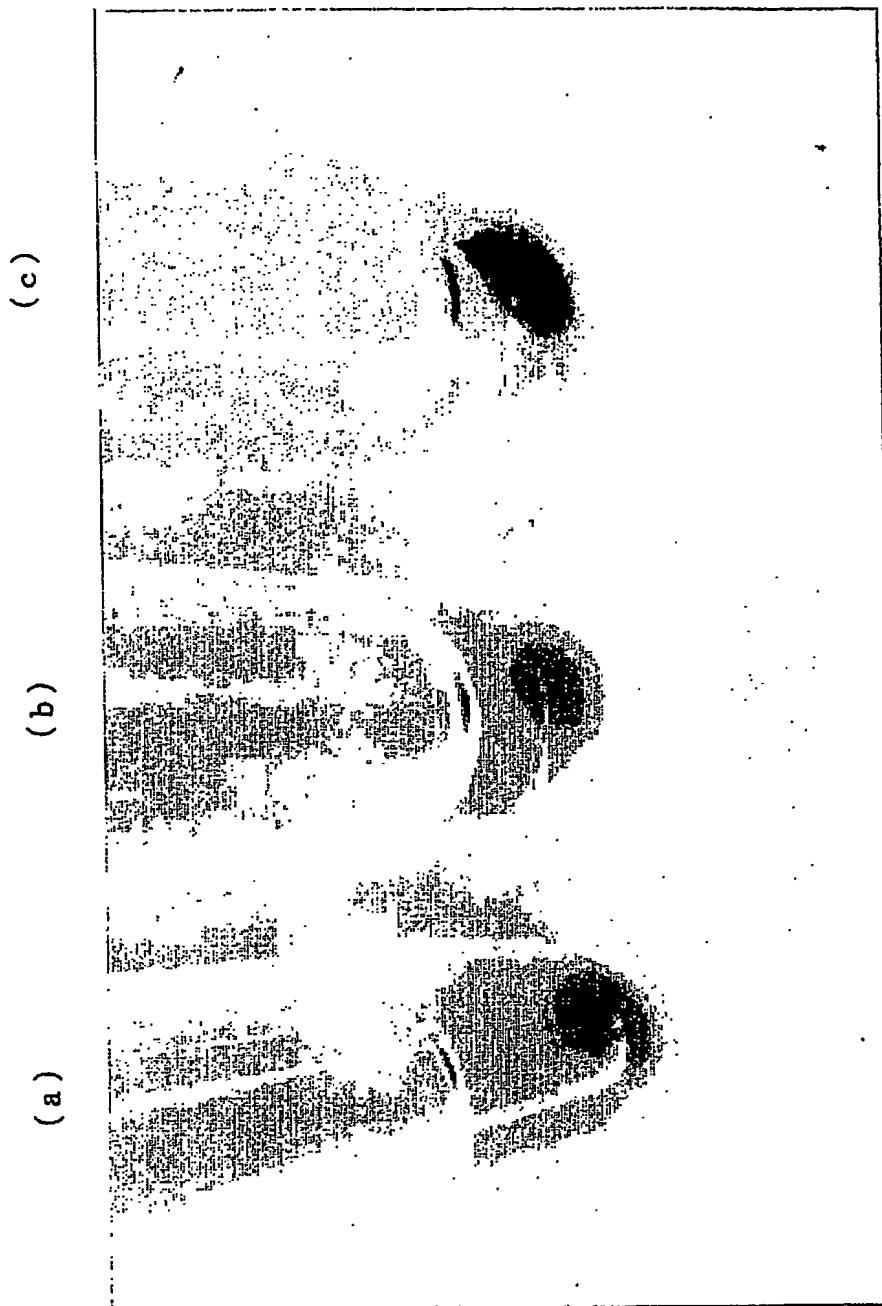
【図2】



【図3】



【図 4】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 Del-1部分断片の提供。

【解決手段】 以下の (a)又は(b)のタンパク質。

(a) 配列番号 4、6、8、10、12、14若しくは16に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質

(b) 配列番号、6、8、10、12、14若しくは16に示されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ、細胞外基質への沈着活性を有するタンパク質

【選択図】 なし

【書類名】 手続補正書
【整理番号】 P03-0057
【提出日】 平成16年 4月14日
【あて先】 特許庁長官 殿
【事件の表示】
 【出願番号】 特願2003-188598
【補正をする者】
 【識別番号】 899000057
 【氏名又は名称】 学校法人日本大学
【代理人】
 【識別番号】 100092783
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 小林 浩
 【電話番号】 03-3273-2611
【手続補正1】
 【補正対象書類名】 特許願
 【補正対象項目名】 発明者
 【補正方法】 変更
 【補正の内容】
 【発明者】
 【住所又は居所】 東京都千代田区九段南四丁目8番24号 学校法人 日本大学内
 【氏名】 日臺 智明
【その他】 発明者である日臺 智明氏の漢字表記に誤記がありましたので訂正致します。

認定・付加情報

特許出願の番号	特願2003-188598
受付番号	50400631792
書類名	手続補正書
担当官	笹川 友子 9482
作成日	平成16年 4月23日

<認定情報・付加情報>

【補正をする者】

【識別番号】 899000057

【住所又は居所】 東京都千代田区九段南四丁目8番24号

【氏名又は名称】 学校法人日本大学

【代理人】

【識別番号】 100092783

【住所又は居所】 東京都中央区八重洲二丁目8番7号 福岡ビル9

階 阿部・井窪・片山法律事務所

【氏名又は名称】 小林 浩

特願 2003-188598

出願人履歴情報

識別番号 [899000057]

1. 変更年月日 1999年 9月17日

[変更理由] 新規登録

住所 東京都千代田区九段南四丁目8番24号
氏名 学校法人日本大学